



UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
Escola Nacional de Saúde Pública



EXPOSIÇÃO A FUNGOS DOS TRABALHADORES DOS GINÁSIOS COM PISCINA

Carla Sofia Costa Viegas

**Tese de Doutoramento em Saúde Pública
na especialidade de Saúde Ambiental e Ocupacional**

Lisboa

2010

Carla Sofia Costa Viegas

EXPOSIÇÃO A FUNGOS DOS TRABALHADORES DOS GINÁSIOS COM PISCINA

Orientação do trabalho:

Doutor Carlos José Pereira da Silva Santos
Professor Auxiliar
Escola Nacional de Saúde Pública da Universidade de Lisboa

Comissão tutorial:

Doutor Carlos José Pereira da Silva Santos
Professor Auxiliar
Escola Nacional de Saúde Pública da Universidade de Lisboa

Doutora Maria Laura Rosado
Investigadora Auxiliar
Responsável Laboratório de Micologia do Departamento de Doenças Infecciosas do
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

Tese de candidatura ao grau de Doutor em
Saúde Pública na Especialidade de Saúde
Ambiental e Ocupacional pela Universidade
Nova de Lisboa através da Escola Nacional
de Saúde Pública.

PALAVRAS DE APREÇO

Quando iniciei o presente estudo encarei-o como “o” desafio a ultrapassar. Não teria conseguido superá-lo sem o apoio incondicional dos elementos que integraram a Comissão Tutorial, designadamente o Professor Doutor Carlos Silva Santos e a Professora Doutora Laura Rosado, cujo empenho e apoio foram evidentes desde o início das actividades inerentes ao presente estudo e que me guiaram durante todas as etapas.

Ao Professor Doutor Carlos Silva Santos que foi meu mentor e me orientou cientificamente para a realização de todas as actividades essenciais ao presente estudo, desde a pesquisa bibliográfica até à produção científica resultante do mesmo, prestando o acompanhamento e o necessário incentivo para a conclusão do estudo.

À Professora Doutora Laura Rosado, que me recebeu de forma acolhedora, desde Março de 2006, no Laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, para o desenvolvimento de estágio de aprendizagem. O estágio em causa foi essencial, não só para a formulação da questão de partida que originou o estudo, mas também para me tornar autónoma em todas as etapas laboratoriais das quais dependiam, não só o presente estudo, mas também futuras investigações na temática da Micologia.

Durante o estágio e, posteriormente, durante o processamento laboratorial inerente ao estudo, por este ter sido tão intenso, foi essencial o apoio que obtive dos outros elementos do laboratório e dos quais posso, neste momento, enaltecer as relações profissionais e de amizade que se criaram e se fortaleceram. Assim, agradeço a paciência e o apoio técnico e científico de todos os colegas e amigos do Laboratório de Micologia, nomeadamente: Dra. Catarina Pinheiro, Eng^a Célia Alves, Dra. Cristina Veríssimo, Dra. Helena Parada, Dr. João Brandão, D. Nazaré Ventura e Dra. Raquel Sabino.

À Professora Adjunta Elisabete Carolino que me apoiou e orientou a análise estatística de todos os dados pertencentes ao presente estudo, bem como da produção científica resultante do mesmo.

À Dra. Maria da Luz Antunes que me auxiliou na pesquisa dos artigos científicos e nas referencias bibliográficas essenciais ao estudo.

Ao meu colega e amigo Professor Adjunto Vítor Manteigas, que realizou a revisão cuidada da redacção completa que compôs o estudo.

A todos os profissionais envolvidos nas actividades do presente de estudo, designadamente: Técnicas de Anatomia Patológica do posto de colheitas do Serviço de Dermatologia do Centro de Saúde do Jardim Constantino, Dra. Célia Galhardas e Dra. Maria José Pereira, que ministraram formação intensiva durante um mês sobre a identificação de lesões e a colheita de produtos biológicos aos profissionais que iriam realizar as colheitas biológicas; os Técnicos de Anatomia Patológica, Ana Santos, Sónia Perdigão e Leontino Lampreia e o Técnico de Análises Clínicas e Saúde Pública, Sérgio Bernardo, que realizaram as colheitas biológicas aos trabalhadores dos ginásios com piscina; e os Técnicos de Saúde Ambiental que colaboraram na realização das colheitas ambientais aos estabelecimentos envolvidos no estudo, Andreia Jalles, Ana Sofia Baptista, Marina Marques, Pedro Almeida e Tukayana Passos.

Durante o tempo dedicado ao presente estudo o apoio familiar foi constante. Não tenho palavras que possam exprimir a gratidão do carinho e apoio prestado pela minha irmã, companheira de percurso, pelo meu marido, pelo meu “irmão” e pelos meus pais.

Por fim, gostaria de dedicar o presente estudo aos meus pais, que me incentivam a superar todos os obstáculos da minha vida. Para eles, um beijo de amor e carinho.

ÍNDICE

ÍNDICE DE QUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xvi
RESUMO.....	xviii
SUMMARY.....	xxiv
RÉSUMÉ.....	xxviii
INTRODUÇÃO.....	33
I Parte – Enquadramento Teórico.....	36
Capítulo I.....	36
Aspectos gerais da Micologia.....	36
1 – Conceitos gerais de Micologia.....	36
2 – Características fúngicas.....	37
2.1 - Estrutura fúngica.....	37
2.2 - Nutrição e metabolismo.....	38
2.3 - Crescimento fúngico.....	38
2.4 - Taxonomia dos fungos.....	39
2.5 - Reprodução.....	40
2.6 - Patogenicidade fúngica.....	42
2.7 - Dermatófitos.....	46
2.7.1 - Patologias provocadas por fungos Dermatófitos.....	52
2.8 - Leveduras.....	54
2.8.1 - Patologias provocadas por Leveduras.....	55
2.9 - Fungos Filamentosos Não Dermatófitos.....	57
2.9.1 - Patologias provocadas por Fungos Filamentosos Não Dermatófitos.....	61
2.10 - Resistência à patogenicidade fúngica.....	61
Capítulo II.....	63
Prevalência da infecção fúngica e disseminação fúngica.....	63
1 – Prevalência de <i>Tinea Pedis</i> e onicomicose.....	63
2 – Características fúngicas que influenciam a sua disseminação.....	67
3 – Variáveis ambientais que influenciam a disseminação fúngica.....	69
4 – Factores intrínsecos que influenciam a infecção fúngica.....	73
5 – Factores extrínsecos não profissionais que influenciam a infecção fúngica.....	76
6 – Factores extrínsecos profissionais que influenciam a infecção fúngica.....	76
Capítulo III.....	80
Exposição Profissional a Fungos.....	80
1 – Exposição profissional.....	80
2 – Formas de exposição a fungos.....	82
2.1 - Exposição por inalação.....	82
2.1.1 - Níveis de referência.....	84
2.1.2 - Fungos veiculados pelo ar.....	91
2.2 - Exposição por contacto.....	93
2.2.1 - Níveis de referência.....	95
2.2.2 - Fungos veiculados por contacto.....	96
3 – Efeitos sobre a saúde.....	97
4 – Caracterização da exposição profissional a fungos em ginásios com piscina.....	101
4.1 - Ginásios com piscina.....	102
4.2 - Fungos existentes nos ginásios com piscina.....	103
4.3 - Trabalhadores dos ginásios com piscina.....	104

5 – Avaliação e gestão do risco de infecção fúngica	106
5.1 - Avaliação ambiental	107
5.1.1 - Selecção das condições de medição	108
5.1.2 - Amostragem	108
5.2 - Vigilância da saúde	111
II Parte – Investigação Empírica	113
Capítulo IV	113
Metodologia	113
1 – Objectivos da investigação	113
1.1 - Objectivo geral	113
1.2 - Objectivos específicos	113
2 – Questões da investigação	114
3 – Tipo de estudo	115
4 – Desenho do estudo	115
5 – Descrição da população e amostra	116
6 – Definição de variáveis	117
7 – Descrição dos instrumentos de recolha de dados	118
7.1 - Colheitas biológicas	119
7.2 - Grelha de observação inerente à colheita biológica	123
7.3 - Questionário aplicado aos trabalhadores	123
7.4 - Avaliação ambiental	124
7.4.1 - Colheitas de ar e processamento laboratorial	125
7.4.2 - Colheitas de superfícies e processamento laboratorial	130
7.4.3 - Avaliação dos parâmetros físicos	132
7.5 - Grelha de observação para as variáveis ambientais	133
8 – Determinação do risco de infecção fúngica cutânea	134
9 – Processamento e análise dos dados	137
10 – Aspectos éticos	139
Capítulo V	140
Resultados	140
1 – Colheitas biológicas	140
1.1 - Distribuição das colheitas biológicas	140
1.2 - Distribuição dos fungos pelo diagnóstico laboratorial	140
1.2.1 - Dermatófitos	141
1.2.2 - Leveduras	142
1.2.3 - Fungos Filamentosos Não Dermatófitos	143
1.3 - Infecções conjuntas	143
2 – Observação dos trabalhadores	144
2.1 - Actividade física antes da colheita	144
2.2 - Lesão visível	144
2.3 - Localização da lesão visível	145
3 - Questionários	146
3.1 - Amostra	146
3.2 - Caracterização da amostra em relação ao género	146
3.3 - Caracterização da amostra em relação à idade	147
3.4 - Caracterização da amostra em relação às habilitações literárias	147
3.5 - Percepção da lesão nos trabalhadores	148
3.6 - Trabalhadores que realizavam tratamento	150
3.7 - Trabalhadores com animal de estimação	150
3.8 - Características da actividade profissional	151

3.9 - Características das actividades de lazer	154
4 – Avaliação ambiental	155
4.1 - Variáveis ambientais	155
4.1.1 - Temperatura	155
4.1.2 - Humidade relativa	155
4.1.3 - Velocidade do Ar.....	156
4.2 - Contaminação fúngica do ar.....	157
4.2.1 - Distribuição dos fungos pelos locais monitorizados	158
4.2.2 - Comparação da contaminação fúngica do ar no interior com o exterior ...	159
4.3 - Contaminação fúngica das superfícies.....	160
4.3.1 - Resultados provenientes dos 10 estabelecimentos monitorizados	160
4.3.2 - Resultados provenientes do estabelecimento monitorizado no Verão e no Inverno	161
4.3.2.1 - Verão	161
4.3.2.2 - Inverno.....	162
5 – Estudo da associação entre variáveis.....	164
5.1 - Actividade física antes da colheita e isolamento fúngico.....	164
5.2 - Lesão visível distribuída pelo género	165
5.2.1 - Lesão visível e género com tempo de exposição.....	165
5.3 - Género e isolamento fúngico.....	166
5.4 - Género e isolamento de Dermatófitos	167
5.5 - Género e isolamento de Leveduras	168
5.6 - Género e fungos isolados.....	169
5.7 - Género e local da lesão	170
5.8 - Idade e lesão visível	172
5.9 - Animal de estimação e lesão visível.....	173
5.10 - Lesão visível e isolamento fúngico	174
5.11 - Lesão visível e isolamento de Dermatófitos	175
5.12 - Lesão visível e fungos isolados.....	176
5.13 - Frequência de piscinas nos tempos livres e lesão visível	177
5.14 - Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento fúngico	178
5.15 - Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento de Dermatófitos	179
5.16 - Frequência de piscinas nos tempos livres e fungos isolados	180
5.17 - Tipo de actividade profissional e lesão visível.....	181
5.18 - Tipo de actividade profissional e isolamento fúngico.....	182
5.19 - Tipo de actividade profissional e isolamento de Dermatófitos.....	183
5.20 - Tipo de actividade profissional e fungos isolados	184
5.21 - Tempo de profissão e lesão visível	185
5.22 - Tempo de profissão e isolamento fúngico	186
5.23 - Tempo de profissão e isolamento de Dermatófitos	187
5.24 - Tempo de profissão e fungos isolados	188
5.25 - Horas semanais de trabalho e lesão visível	189
5.26 - Horas semanais de trabalho e isolamento fúngico	190
5.27 - Horas semanais de trabalho e isolamento de Dermatófitos	191
5.28 - Horas semanais de trabalho e fungos isolados	192
5.29 - Andar descalço e lesão visível	193
5.30 – Andar descalço e isolamento fúngico	194
5.31 - Andar descalço e isolamento de Dermatófitos	195
5.32 - Andar descalço e fungos isolados.....	196
5.33 - Contaminação fúngica do ar e variáveis ambientais	197

5.33.1 - Fungos mais frequentes no ar e variáveis ambientais	198
5.34 - Contaminação fúngica do ar e ocupantes dos estabelecimentos.....	202
5.35 - Contaminação fúngica das superfícies e variáveis ambientais	203
5.35.1 - Resultados dos dez estabelecimentos.....	203
5.35.1.1 - Contaminação fúngica das superfícies e influência conjunta das variáveis ambientais	204
5.35.2 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Verão	206
5.35.3 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Inverno	208
5.36 - Contaminação fúngica das superfícies e ocupantes dos estabelecimentos...	211
5.36.1 - Resultados dos dez estabelecimentos.....	211
5.36.2 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Verão	211
5.36.3 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Inverno	212
5.37 - Contaminação fúngica do ar e contaminação fúngica das superfícies	213
5.38 - Comparação da contaminação fúngica das superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção.....	215
5.39 - Comparação da contaminação fúngica das superfícies do estabelecimento monitorizado no Verão e no Inverno.....	217
5.39.1 - Diferenças significativas entre antes e depois da lavagem e desinfecção	217
5.39.2 - Diferenças significativas entre o Verão e o Inverno	218
6 – Aplicação de método para estimar o risco de infecção fúngica cutânea para os trabalhadores através das superfícies	220
6.1 – Resultados do método aplicado aos 10 Estabelecimentos.....	222
6.2 - Resultados do método aplicado a um estabelecimento no Verão e no Inverno	225
7 – Relação entre a contaminação fúngica das superfícies e a infecção fúngica dos trabalhadores.....	227
Capítulo VI.....	229
Discussão.....	229
1 – Aspectos metodológicos	229
1.1 - Desenho do estudo	229
1.2 - Colheitas biológicas	233
1.2.1 – Identificação fúngica associada ao diagnóstico laboratorial	233
1.3 - Colheitas ambientais	234
1.4 - Métodos laboratoriais	236
2 - Resultados.....	237
2.1 - Biológicos.....	237
2.2 - Ambientais.....	240
2.3 - Estudo da associação entre variáveis	245
2.3.1 - Variáveis biológicas	245
2.3.2 - Variáveis ambientais	248
2.4 - Diferenças significativas na contaminação fúngica das superfícies entre antes e depois da lavagem e desinfecção e entre o Verão e o Inverno	252
2.5 - Limites quantitativos e qualitativos para a contaminação fúngica	254
2.6 - Padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies.....	257
2.7 - Relação entre a contaminação fúngica das superfícies e a infecção fúngica dos trabalhadores	260
Capítulo VII.....	262
Conclusões e perspectivas futuras	262
Referências bibliográficas.....	266
Bibliografia	307

APÊNDICES	312
Apêndice I – Grelha de observação inerente à colheita biológica	
Apêndice II – Questionário aplicado aos trabalhadores	
Apêndice III – Grelha de Observação para as variáveis ambientais	

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Parâmetros micológicos a analisar nas areias das praias	96
Quadro 2 - Valores máximos recomendados e valores máximos admissíveis para as areias das praias	96
Quadro 3 – Classificação dos Agentes Biológicos.....	107
Quadro 4 – Variáveis seleccionadas para o estudo.....	118
Quadro 5 – Vantagens e limitações do método utilizado para a colheita da fracção de ar	126
Quadro 6 - Valores de referência dos parâmetros físicos	133
Quadro 7 – Níveis de gravidade	135
Quadro 8 – Níveis de frequência	136
Quadro 9 – Níveis de exposição	136
Quadro 10 – Dados das variáveis ambientais no interior dos estabelecimentos	156
Quadro 11 – Fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência no ar interior dos 10 estabelecimentos monitorizados	158
Quadro 12 – Géneros predominantes de fungos filamentosos e leveduriformes isolados no ar dos dez estabelecimentos monitorizados	159
Quadro 13 – Géneros de fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência nas superfícies dos 10 estabelecimentos monitorizados	161
Quadro 14 – Géneros de fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência nas superfícies no Verão	162
Quadro 15 – Géneros de fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência nas superfícies no Inverno	163
Quadro 16 – Actividade física antes da colheita e isolamento fúngico	164
Quadro 17 – Lesão visível distribuída pelo género	165
Quadro 18 – Género e isolamento fúngico	166
Quadro 19 – Género e isolamento de Dermatófitos.....	167
Quadro 20 – Género e isolamento de Leveduras	168
Quadro 21 – Género e fungos isolados	169
Quadro 22 – Género e local da lesão	170
Quadro 23 – Idade e lesão visível.....	172
Quadro 24 – Animal de estimação e lesão visível	173
Quadro 25 – Lesão visível e isolamento fúngico.....	174
Quadro 26 – Lesão visível e isolamento de Dermatófitos.....	175
Quadro 27 – Lesão visível e fungos isolados.....	176
Quadro 28 – Frequência de piscinas nos tempos livres e lesão	177
Quadro 29 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento fúngico.....	178
Quadro 30 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento de Dermatófitos	179
Quadro 31 – Frequência de piscinas nos tempos livres e fungos isolados.....	180
Quadro 32 – Tipo de actividade profissional e lesão visível	181
Quadro 33 – Tipo de actividade profissional e isolamento fúngico	182
Quadro 34 – Tipo de actividade profissional e isolamento de Dermatófitos.....	183
Quadro 35 – Tipo de actividade profissional e fungos isolados	184
Quadro 36 – Tempo de profissão e lesão visível.....	185
Quadro 37 – Tempo de profissão e isolamento fúngico.....	186
Quadro 38 – Tempo de profissão e isolamento de Dermatófitos	187
Quadro 39 – Tempo de profissão e fungos isolados.....	188
Quadro 40 – Horas semanais de trabalho e lesão visível.....	189

Quadro 41 – Horas semanais de trabalho e isolamento fúngico.....	190
Quadro 42 – Horas semanais e isolamento de Dermatófitos.....	191
Quadro 43 – Horas semanais e fungos isolados	192
Quadro 44 – Andar descalço e lesão visível.....	194
Quadro 45 – Andar descalço e isolamento fúngico.....	195
Quadro 46 – Andar descalço e isolamento de Dermatófitos.....	196
Quadro 47 – Andar descalço e fungos isolados.....	197
Quadro 48 – Distribuição dos utilizadores nos dias das avaliações nos 10 estabelecimentos ..	202
Quadros 49 e 50 – Aplicação do teste de Wilcoxon sobre a contaminação fúngica do ar e a das superfícies	214
Quadro 51 – Mediana e intervalo interquartis da contaminação fúngica do ar e a das superfícies	214
Quadro 52 – Média e desvio padrão dos resultados referentes à contaminação fúngica	216
Quadro 53 – Resultados da aplicação do teste de Wilcoxon	216
Quadro 54 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m ²) antes e depois da lavagem e desinfecção durante o Verão.....	218
Quadro 55 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m ²) antes e depois da lavagem e desinfecção durante o Inverno	218
Quadro 56 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m ²) no Verão e Inverno antes da lavagem e desinfecção.....	219
Quadro 57 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m ²) no Verão e Invernodepois da lavem e desinfecção.....	220
Quadro 7 – Níveis de gravidade	220
Quadro 8 – Níveis de frequência	221
Quadro 9 – Níveis de exposição	221
Quadro 58 – Níveis de Risco	222
Quadro 59 – Fungos isolados comumente nas superfícies dos ginásios com piscina e nos trabalhadores.....	228

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição das colheitas biológicas realizadas nos diferentes locais do pé.....	140
Figura 2 – Distribuição relativa das espécies fúngicas isoladas por fungos leveduriformes e fungos filamentosos.	141
Figura 3 – Distribuição das espécies fúngicas isoladas no grupo dos Dermatófitos.....	142
Figura 4 – Distribuição das espécies fúngicas isoladas no grupo das Leveduras.	142
Figura 5 – Distribuição das espécies fúngicas isoladas no grupo dos FFND.....	143
Figura 6 – Distribuição relativa da actividade física antes da colheita biológica.	144
Figura 7 – Distribuição relativa das lesões visíveis.....	145
Figura 8 – Distribuição absoluta da localização das lesões.....	145
Figura 9 – Percentagem da amostra inerente ao estudo.....	146
Figura 10 – Caracterização da amostra em relação ao género.....	146
Figura 11 – Caracterização da amostra em relação à idade.....	147
Figura 12 – Caracterização da amostra em relação às habilitações literárias.....	148
Figura 13 – Lesões dos trabalhadores que responderam afirmativamente (nos últimos 8 dias).	148
Figura 14 – Percepção das lesões dos trabalhadores que responderam afirmativamente (alguma vez na vida).	149
Figura 15 – Distribuição dos tipos de lesão nos 81 trabalhadores (alguma vez na vida).....	149
Figura 16 – Distribuição relativa dos trabalhadores com lesão que realizavam tratamento.....	150
Figura 17 – Distribuição relativa dos trabalhadores quanto a possuírem animal de estimação.	150
Figura 18 – Distribuição relativa dos trabalhadores que realizam uma ou mais do que uma actividade.....	151
Figura 19 – Actividades profissionais mais frequentes.....	151
Figura 20 – Distribuição dos trabalhadores pelas horas trabalhadas por semana.....	152
Figura 21 – Tempo que os trabalhadores desenvolvem a actividade.....	152
Figura 22 – Tipo de actividades profissionais desenvolvidas pelos trabalhadores considerando o calçado.....	153
Figura 23 – Locais onde os trabalhadores andam descalços.....	154
Figura 24 – Actividade física além da profissional.....	154
Figura 25 – Frequência de piscinas nas horas livres.....	155
Figura 26 – Distribuição relativa dos locais não conformes com os requisitos legais em relação às variáveis ambientais medidas.....	157
Figura 27 – Fungos filamentosos isolados no ar interior e exterior de cada espaço monitorizado dos 10 estabelecimentos.....	160
Figura 28 – Actividade física antes da colheita e isolamento fúngico.....	164
Figura 29 – Lesão visível distribuída pelo género.....	165
Figura 30 – Género e isolamento fúngico.....	167
Figura 31 – Género e isolamento de Dermatófitos.....	168
Figura 32 – Género e isolamento de Leveduras.....	169
Figura 33 – Género e fungos isolados.....	170
Figura 34 – Género e local da lesão.....	171
Figura 35 – Idade e Lesão visível.....	172
Figura 36 – Animal de estimação e lesão visível.....	173
Figura 37 – Lesão visível e isolamento fúngico.....	174
Figura 38 – Lesão visível e isolamento de Dermatófitos.....	175
Figura 39 – Lesão visível e fungos isolados.....	176
Figura 40 – Frequência de piscinas nos tempos livres e lesão.....	178

Figura 41 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento fúngico.....	179
Figura 42 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento de Dermatófitos.....	180
Figura 43 – Frequência de piscinas nos tempos livres e fungos isolados.....	181
Figura 44 – Tipo de actividade profissional e lesão visível.....	182
Figura 45 – Tipo de actividade profissional e isolamento fúngico.....	183
Figura 46 – Tipo de actividade profissional e isolamento de Dermatófitos.....	184
Figura 47 – Tipo de actividade profissional e fungos isolados.....	185
Figura 48 – Tempo de profissão e lesão visível.....	186
Figura 49 – Tempo de profissão e isolamento fúngico.....	187
Figura 50 – Tempo de profissão e isolamento de Dermatófitos.....	188
Figura 51 – Tempo de profissão e fungos isolados.....	189
Figura 52 – Horas semanais de trabalho e lesão visível.....	190
Figura 53 – Horas semanais de trabalho e isolamento fúngico.....	191
Figura 54 – Horas semanais de trabalho e isolamento de Dermatófitos.....	192
Figura 55 – Horas semanais de trabalho e fungos isolados.....	193
Figura 56 – Andar descalço e lesão visível.....	194
Figura 57 – Andar descalço e isolamento fúngico.....	195
Figura 58 – Andar descalço e isolamento de Dermatófitos.....	196
Figura 59 – Andar descalço e fungos isolados.....	197
Figuras 60 e 61 – Fungos filamentosos isolados no ar interior dos balneários e vestiários masculinos dos 10 estabelecimentos e os valores obtidos com a monitorização das variáveis ambientais temperatura e humidade relativa.....	198
Figura 62 – Influência da temperatura nas médias das UFC/m ³ do género <i>Cladosporium</i>	199
Figura 63 – Influência da humidade relativa nas médias das UFC/m ³ do género <i>Cladosporium</i>	199
Figura 64 – Influência da temperatura nas médias das UFC/m ³ do género <i>Penicillium</i>	200
Figura 65 – Influência da humidade relativa nas médias das UFC/m ³ do género <i>Penicillium</i>	200
Figura 66 – Influência da temperatura nas médias das UFC/m ³ do género <i>Aspergillus</i>	201
Figura 67 – Influência da humidade relativa nas médias das UFC/m ³ do género <i>Aspergillus</i> ..	201
Figura 68 – Influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos 10 estabelecimentos nas médias das UFC/m ³	203
Figura 69 – Influência da temperatura nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.....	204
Figura 70 – Influência da humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.....	204
Figura 71 – Influência da temperatura nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.....	205
Figura 72 – Influência da humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.....	205
Figura 73 – Influência da associação entre temperatura e humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.....	206
Figura 74 – Influência da temperatura nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.....	206
Figura 75 – Influência da humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.....	207
Figura 76 – Influência da temperatura nas UFC/m ² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.....	207
Figura 77 – Influência da humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.....	208

Figura 78 – Influência da temperatura nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.....	209
Figura 79 – Influência da humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.	209
Figura 80 – Influência da temperatura nas UFC/m ² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.....	210
Figura 81 – Influência da humidade relativa nas UFC/m ² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.	210
Figura 82 – Influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos 10 estabelecimentos e as médias das UFC/m ² antes da lavagem e desinfecção.	211
Figura 83 – Influência do número de ocupantes que frequentaram o estabelecimento no Verão e as médias das UFC/m ² antes da lavagem e desinfecção.	212
Figura 84 – Influência do número de ocupantes que frequentaram o estabelecimento monitorizado no Inverno e as médias das UFC/m ² antes da lavagem e desinfecção.....	212
Figura 85 – Influência da contaminação fúngica do ar na contaminação fúngica das superfícies.	213
Figura 86 – Comparação da contaminação fúngica do ar com a contaminação fúngica das superfícies.	215
Figura 87 – Número de locais por Nível de Risco.....	222
Figura 88 – Número de locais por estabelecimento com Nível de Risco Elevado.	223
Figura 89 – Número de locais por Nível de Risco antes e depois da lavagem e desinfecção. ...	224
Figura 90 – Resultados relativos à classificação do Nível de Risco nos diferentes locais.....	224
Figura 91 – Número de locais por Nível de Risco antes e depois da lavagem e desinfecção no Verão.	225
Figura 92 – Número de locais por Nível de Risco antes e depois da lavagem e desinfecção no Inverno.....	226
Figura 93 – Resultados relativos à classificação do Nível de Risco nos diferentes locais de um único estabelecimento no Verão.....	226
Figura 94 – Resultados relativos à classificação do Nível de Risco nos diferentes locais de um único estabelecimento no Inverno.	227

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACGIH	American Conference of Government Industrial Hygienists
AIHA	American Industrial Hygiene Association
ALD	Antes da lavagem e desinfecção
AM	Agar micobiótico com ciclohexamida
ASHRAE	International technical society organized to advance the arts and sciences of heating, ventilation, air-conditioning and refrigeration
AVAC	Aquecimento, ventilação e ar condicionado
BS	British Standard
BVF	Balneários e vestiários femininos
BVM	Balneários e vestiários masculinos
°C	Grau Celsius
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CNQ	Conselho Nacional de Qualidade
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
DLD	Depois da lavagem e desinfecção
<i>E. floccosun</i>	<i>Epidermophyton floccosun</i>
EN	European Norm
EPA	United States Environmental Protection Agency
FFND	Fungos Filamentosos Não Dermatófitos
<i>F. oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>F. solani</i>	<i>Fusarium solani</i>
g	Grama
IIQ	Intervalos interquartis

INSA	Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
ISO	Norma da International Organization for Standardization
KOH	Hidróxido de potássio
L/min	Litros por minuto
≥	Maior ou igual número
>	Maior que
<	Menor que
m²	Metro quadrado
m³	Metro cúbico
<i>M. canis</i>	<i>Microsporum canis</i>
MEA	Malte agar com cloranfenicol; <i>mal extract agar</i>
NP EN	Normas portuguesas EN
OMS	Organização Mundial de Saúde
OSHAS	Occupational Health and Safety Assessment Specification - Sistemas de Gestão de Saúde e Segurança do Trabalho
RCS	Reuter Centrifugal sampler
RSECE	Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios
<i>T. mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
<i>T. rubrum</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
UFC	Unidades formadoras de colónias
µm	Micrómetro
\bar{x}	Mediana
VMR	Valor máximo recomendado
VMA	Valor máximo admissível
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana

RESUMO

Os trabalhadores dos ginásios com piscinas apresentam maior prevalência de lesões fúngicas, como a *Tinea pedis* e a onicomicose, devido às características intrínsecas da sua actividade profissional, pois apresentam mais horas por dia de exposição à contaminação fúngica das superfícies. Esta situação verifica-se não só por serem os que mais frequentam os locais possíveis de estarem contaminados, como é o caso de balneários, vestiários e zona envolvente às piscinas, mas também porque algumas das actividades desenvolvidas são realizadas com os pés descalços. Além disso, a utilização de roupa sintética e de calçado ocluso, que retêm a sudação excessiva, favorece o desenvolvimento fúngico.

Constituiu objectivo deste trabalho conhecer o risco de infecção e/ou lesão (*Tinea pedis* e onicomicose) nos trabalhadores dos ginásios com piscina e a sua eventual relação com a exposição à contaminação fúngica (ar e superfícies) dos locais de trabalho. Foram descritas as variáveis ambientais e biológicas que influenciam a infecção e/ou lesão fúngica em ambiente profissional e exploradas eventuais associações entre essas mesmas variáveis. Foram também conhecidas as diferenças da contaminação fúngica das superfícies entre as duas principais estações do ano (Verão e Inverno) e entre antes e depois da lavagem e desinfecção.

O estudo realizado possui uma componente transversal, em que se pretendeu descrever os fenómenos ambientais e biológicos da contaminação fúngica em ambiente profissional e explorar eventuais associações entre variáveis; uma componente longitudinal, em que foram conhecidas as diferenças sazonais da contaminação fúngica das superfícies; e, ainda, uma componente quase experimental, em que foi analisada a distribuição fúngica nas superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção.

Na vertente transversal foi considerada uma amostra de 10 ginásios com piscina e outra amostra de, pelo menos, 10 profissionais de cada estabelecimento, perfazendo um total de 124 trabalhadores (75 Homens - 60,48% e 49 Mulheres - 39,52%). Foram realizadas 258 colheitas biológicas aos pés dos trabalhadores, efectuada a avaliação ambiental da contaminação fúngica dos estabelecimentos através de 50 colheitas de amostras de ar e 120 colheitas de amostras de superfícies (60 antes e 60 depois da lavagem e desinfecção) e efectuados os respectivos processamento laboratorial e identificação fúngica. Foram também avaliadas as variáveis ambientais temperatura, humidade relativa e velocidade do ar, preenchidas 10 grelhas de observação, com o objectivo de efectuar o registo de informação sobre as variáveis que

influenciam a exposição ocupacional às espécies fúngicas e, ainda, completadas 124 grelhas de observação inerentes à colheita de material biológico, de modo a realizar o registo dos profissionais com lesão e outras informações pertinentes para a análise laboratorial. Todos os 124 trabalhadores responderam a um questionário, em simultâneo à realização das colheitas biológicas, de modo a conhecer algumas das variáveis individuais e profissionais com pertinência para o presente estudo.

Num dos estabelecimentos, foram também estudadas as diferenças da contaminação fúngica das superfícies entre antes e depois da lavagem e desinfecção e, ainda, entre as duas estações do ano (Verão e Inverno). Nesse estabelecimento, foram realizadas 36 colheitas de superfícies antes e 36 colheitas depois da lavagem e desinfecção, em 6 dias diferentes da semana, durante 6 semanas sequenciais em cada estação do ano, completando um total de 72 colheitas de superfícies.

Foi ainda criado e aplicado um método para estabelecer um padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies, de modo a permitir definir níveis semi-quantitativos de estimacão do risco de infecção fúngica dos trabalhadores dos ginásios com piscinas. Para o critério da Gravidade, considerou-se que a gravidade da contaminação e, conseqüentemente, da possível lesão, está intimamente relacionada com a espécie fúngica envolvida. Foram calculadas as médias da contaminação fúngica por cada estabelecimento antes da lavagem e desinfecção, de modo a estabelecer os níveis de Frequência e, em relação à Exposição, foram estabelecidos intervalos para agrupar as horas semanais de trabalho.

Dos 124 trabalhadores que participaram no estudo, 58 (46,8%) possuíam lesões visíveis. Nesses 58, as Leveduras foram as mais isoladas (41,4%), seguidas dos Dermatófitos (24,1%) e de Fungos Filamentosos Não Dermatófitos (6,9%). *Candida parapsilosis* e *Rhodotorula* sp. foram as Leveduras mais frequentemente isoladas (20,2%); no caso dos Dermatófitos, *Trichophyton rubrum* foi a espécie mais frequente (55,5%) e, relativamente aos Fungos Filamentosos Não Dermatófitos, *Penicillium* sp. foi o mais isolado (15,6%), seguido do género *Fusarium* (12,5%).

No que concerne à contaminação fúngica das superfícies, 37 fungos filamentosos foram isolados. *Fusarium* foi o género mais frequente, antes e depois da lavagem e desinfecção (19,1% - 17,2%). Em relação aos fungos leveduriformes, 12 leveduras diferentes foram identificadas, tendo sido os géneros *Cryptococcus* (40,6%) e *Candida* (49,3%) os mais frequentes antes e depois da lavagem e desinfecção, respectivamente.

Em relação à contaminação fúngica do ar, foram identificados 25 fungos filamentosos diferentes, em que os 3 géneros mais frequentemente isolados foram *Cladosporium* (36,6%), *Penicillium* (19,0%) e *Aspergillus* (10,2%). Relativamente às leveduras, foi identificado o género

Rhodotorula (87,5%) e as espécies *Trichosporon mucoides* e *Cryptococcus unigutulattus* (12,5%).

Verificou-se associação, ao nível de significância de 5%, entre lesão visível e horas semanais e entre lesão visível e tempo de profissão, comprovando a influência da duração da exposição ao factor de risco (contaminação fúngica do ambiente profissional), para a presença de lesão visível nos trabalhadores expostos (*Tinea pedis* e onicomicose), ficando demonstrada a relação entre a exposição ao factor de risco em estudo – exposição profissional a fungos – com os efeitos para a saúde.

As variáveis ambientais avaliadas (temperatura, humidade relativa e velocidade do ar) não influenciaram a contaminação fúngica do ar e das superfícies, não tendo sido evidenciada nenhuma relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Contudo, verificou-se influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos estabelecimentos nas médias das unidades formadoras de colónias por metro quadrado nas superfícies antes da lavagem e desinfecção. Não se verificou correlação entre os resultados quantitativos da contaminação fúngica do ar e a das superfícies dos 10 estabelecimentos monitorizados. No entanto, verificaram-se diferenças significativas, ao nível de significância de 10%, entre a contaminação fúngica das superfícies e a contaminação fúngica do ar ($p < 0,1$), tendo-se constatado que apesar de 50% dos valores mais baixos terem sido superiores na contaminação fúngica do ar, a contaminação fúngica das superfícies apresentou-se com maior variabilidade quantitativa.

Em relação às diferenças significativas na contaminação fúngica das superfícies nos 10 estabelecimentos entre antes e depois da lavagem e desinfecção, apenas se verificou redução significativa ($p < 0,05$) da contaminação fúngica depois da lavagem e desinfecção nos balneários e vestiários masculinos em relação aos fungos leveduriformes.

No estabelecimento seleccionado, verificou-se que a relação entre a contaminação fúngica e a temperatura e humidade relativa não foi significativa ($p > 0,05$) em ambas as estações do ano e também não se constatou influência dos ocupantes nos valores médios das unidades formadoras de colónias por metro quadrado das superfícies antes da lavagem e desinfecção em ambas as estações de ano.

Em quase todas as situações em que se verificaram diferenças significativas entre as duas estações do ano, verificou-se um aumento das unidades formadoras de colónias por metro quadrado no Inverno, com excepção do total das unidades formadoras de colónias por metro quadrado antes da lavagem e desinfecção nos balneários e vestiários masculinos em que se verificou aumento no Verão. Constatou-se também que apenas ocorreu redução da

contaminação fúngica depois da lavagem e desinfecção nas escadas de acesso no Inverno e nos balneários e vestiários masculinos no Verão.

Com a aplicação do método para estabelecer um padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies obteve-se, nos 10 estabelecimentos, com Nível de Risco Mínimo 65 locais (54,2%), com Nível de Risco Médio 23 locais (19,2%) e com Nível de Risco Elevado 32 locais (26,6%). Próximo do *jacuzzi* e junto ao tanque foram os locais com mais classificações de Nível de Risco Elevado. No estabelecimento seleccionado verificou-se que, no Verão, depois da lavagem e desinfecção, ocorreu um maior número de locais classificados no Nível de Risco Elevado e, no Inverno, constatou-se a situação inversa, tendo sido observado maior número de locais com Nível de Risco Elevado antes da lavagem e desinfecção. Junto ao tanque e nas escadas de acesso à zona envolvente ao *jacuzzi* e tanque foram os locais com mais classificações de Nível de Risco Elevado, no Verão e no Inverno.

Foram isolados nas superfícies fungos comuns aos isolados nos trabalhadores. Antes da lavagem e desinfecção, 30,3% dos fungos foram isolados nas superfícies e nos trabalhadores e depois desses procedimentos 45,5% dos fungos foram também isolados comumente. As Leveduras foram as mais isoladas comumente e as que se verificaram mais frequentes antes e depois da lavagem e desinfecção das superfícies e, também, nos resultados das colheitas biológicas realizadas aos trabalhadores, foram o género *Rhodotorula* e a espécie *Candida parapsilosis*, permitindo confirmar que a infecção fúngica dos trabalhadores está relacionada com a contaminação fúngica das superfícies.

Concluiu-se que é necessária a intervenção em Saúde Ocupacional no âmbito da vigilância ambiental e da vigilância da saúde, com o intuito de diminuir a prevalência das infecções fúngicas. Para a prossecução desse objectivo, sugere-se a implementação de medidas preventivas, nomeadamente: o controlo da contaminação fúngica das superfícies mediante procedimentos de lavagem e desinfecção eficazes, de modo a minimizar a contaminação fúngica das superfícies; a identificação precoce da infecção através da realização de colheitas biológicas periódicas aos trabalhadores, inseridas num protocolo de vigilância da saúde; e, ainda, a sensibilização para a aplicação de medidas de higiene pessoal e o tratamento das patologias.

A aplicação do método criado para estabelecer um padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies servirá não só para a estimação do risco de infecção fúngica dos trabalhadores de ginásios com piscinas, mas também para facilitar o estabelecimento de valores fúngicos de referência, a implementação de medidas correctivas adequadas e imediatas e, ainda, a prevenção de infecções fúngicas, não só nos ginásios com piscina, mas também noutros contextos profissionais.

PALAVRAS-CHAVE: trabalhadores dos ginásios com piscina, lesões fúngicas, risco de infecção fúngica, exposição à contaminação fúngica, variáveis ambientais, padrão de exposição profissional a fungos.

SUMMARY

Gyms with swimming pools workers have higher prevalence of fungal injuries, such as *Tinea pedis* and onychomycosis. This is due to their work intrinsic characteristics, since they have more hours per day of exposure to surfaces fungal contamination. This occurs not only because they attend sites most likely to be contaminated, such as showers, changing rooms and pool surrounding area, but also because some of the activities are done barefoot. Furthermore, synthetic clothing and occluded footwear use, which retain the excessive sweating, promotes fungal development.

The aim of this study was to know gymnasiums with swimming pool workers infection and/or injury (*Tinea pedis* and onychomycosis) risk, and its possible relationship with exposure to workplace fungal contamination (air and surfaces). This study describes environmental and biological variables that influence infection and/or fungal injury in a professional setting and explored possible associations between these variables. Differences in surfaces fungal contamination between the two main seasons (summer and winter), as well between before and after cleaning and disinfection were known.

It was developed a study with an cross-sectional perspective, that aimed to describe the biological and environmental phenomena of fungal contamination in a professional environment and explore possible associations between variables; an longitudinal perspective in which were known surfaces fungal contamination seasonal differences; and also with an almost experimental perspective that analyzed surfaces fungal distribution before and after cleaning and disinfection.

The cross-sectional perspective comprised 10 gyms with swimming pool sample, and another sample of, at least, 10 professionals in each establishment totalling 124 workers (75 men – 60,48%, and 49 women – 39,52%). Were performed 258 biological samples at workers feet, environmental fungal contamination evaluation from the establishments through 50 air samples and 120 surfaces samples (60 before and 60 after cleaning and disinfection) and conducted their laboratory processing and fungal identification. Were also evaluated environmental variables, such as temperature, relative humidity and air velocity completed 10 observation grids, in order to obtain data about variables that affect occupational exposure to fungal species, and also completed 124 observation grids inherent to biological material collection, in order to know the professionals with injury and other relevant information for laboratory analysis. All 124 workers answered to a questionnaire at the same time that occur biological samples collection, in order to

obtain information about some of the individual and professional variables with relevance to this study.

In one of the establishments were also studied differences concerning surfaces fungal contamination between before and after cleaning and disinfection, and also between two main seasons (summer and winter). In this setting, there were performed 36 surfaces samples before and 36 surfaces samples after cleaning and disinfection on 6 different week days for 6 sequential weeks in each season, totalling 72 surfaces samples.

It was also created and implemented a method to establish a pattern for surfaces fungal occupational exposure, in order to help define semi-quantitative levels estimation to fungal infection risk in gyms with swimming pools workers. For Gravity criterion it was considered that contamination severity and, thus, the possible injury are closely related to implicate fungal species. Was calculated fungal contamination average by each establishment prior cleaning and disinfection, in order to establish Frequency levels. Regarding Exposure, were established weekly hours group intervals spent in professional activity.

From the 124 professionals tested, 58 (46,8%) had visible injuries. In the 58 workers, Yeasts were the most isolated (41,4%), followed by Dermatophytes (24,1%) and Other Filamentous Fungi Besides Dermatophytes (6,9%). *Candida parapsilosis* and *Rhodotorula* sp. were the most frequently isolated Yeasts (20,2% for each), from Dermatophytes, *Trichophyton rubrum* was the most frequently isolated species (55,5%) and from Other Filamentous Fungi Besides Dermatophytes, *Penicillium* sp. was the most frequent (15,6%), followed by *Fusarium* genera (12,5%).

Regarding surfaces fungal contamination, 37 filamentous fungi were isolated. *Fusarium* genera was the most frequent, before and after cleaning and disinfection (19,1% - 17,2%). Considering yeasts, 12 different yeasts were identified, being *Cryptococcus* (40,6%) and *Candida* (49,3%) genera the more frequent before and after cleaning and disinfection, respectively.

In relation to air fungal contamination, 25 different filamentous fungi were identified and the 3 most frequently isolated genera were *Cladosporium* (36,6%), *Penicillium* (19,0%) and *Aspergillus* (10,2%). For yeasts, were identified *Rhodotorula* genera (87,5%), and also the species *Trichosporon mucoides* and *Cryptococcus unigutulattus* (12,5%).

Was found association with 5% significance level, between visible injury and weekly hours and between visible injury and occupation time, confirming exposure duration influence to risk factor (work environment fungal contamination) for the visible injury presence in exposed workers (*Tinea pedis* and onychomycosis), being confirmed the relation between the study exposure risk - occupational exposure to fungi - with health effects.

Environmental variables evaluated (temperature, relative humidity and air velocity) did not affect air and surfaces fungal contamination and wasn't found no statistically significant relation ($p>0,05$). However, there was evidence that occupant's number influence surfaces colony forming units mean per square meter before cleaning and disinfection. There was no correlation between quantitative data from air fungal contamination and surfaces fungal contamination from the 10 establishments monitored. However, there were significant differences with 10% significance level, between surfaces and air fungal contamination ($p<0,1$), and despite 50% of the lowest rates were higher in air fungal contamination, it was found that surfaces fungal contamination had more quantitative variability.

Regarding differences from the 10 establishments surfaces fungal contamination, between before and after cleaning and disinfection, there was only a significant reduction ($p<0,05$) in fungal contamination after cleaning and disinfection in male changing rooms for yeasts.

In the selected establishment, it was found that relation between fungal contamination and temperature and relative humidity was not significant ($p>0,05$) in both seasons, and also there wasn't no influence observed from occupants in surfaces colony forming units mean per square meters before cleaning and disinfection in both seasons.

In almost all situations where significant differences between the two seasons were shown, there was a colony-forming units per square meter increase in winter. There was an exception in total colony forming units per square meter before cleaning and disinfection in male changing room's exception, where there was an increase in summer. Furthermore, was found that only occur a reduction in fungal contamination after cleaning and disinfection, on access stairs in winter, as well as in male changing rooms in summer.

With application from the method to establish pattern for surfaces fungal occupational exposure, it was obtained, in the 10 establishments, 65 sites with Low Risk Level (54,2%), 23 sites with Average Risk Level (19,2%) and 32 sites with High Risk Level (26,6%). Near swimming pool and jacuzzi were the places with more High Risk Level classifications. In the selected establishment, was found that in the summer, after cleaning and disinfection, there were a greater number of sites classified as High Risk Level, and in winter it was found the opposite situation, being noted more places with High Risk Level before cleaning and disinfection. Next to swimming pool and access stairs to swimming pool and jacuzzi were the places with more High Risk Level classifications in Summer and Winter.

Were isolated common fungi in surfaces and in workers. Prior to cleaning and disinfection 30,3% of fungi were isolated on surfaces and workers, and after 45,5% of fungi were also

commonly isolated. The Yeasts were the most commonly isolated and the most frequent before and after surfaces cleaning and disinfection, and also in workers biological samples, were *Rhodotorula* genera and *Candida parapsilosis*, allowing confirming that workers fungal infection is related with surfaces fungal contamination.

It was concluded that Occupational Health intervention it is necessary, in environmental monitoring and health surveillance perspective, in order to reduce fungal infections prevalence. To achieve this objective, preventive measures implementation it's recommended, including: surfaces fungal contamination control, through effective cleaning and disinfecting in order to minimize surfaces fungal contamination; early infection identification by performing periodic biological sampling from workers, included in a health surveillance protocol; and also personal hygiene and diseases treatment awareness.

Application of the created method to establish pattern for surfaces fungal occupational exposure, will be useful not only for estimating workers from gymnasiums with swimming pools fungal infection risk, but also to facilitate fungal reference values stipulation, effective and corrective measures implementation, and also, fungal infections prevention, not only in gymnasiums with swimming pool, but also in other professional settings.

KEYWORDS: gymnasiums with swimming pool workers, fungal injuries, fungal infection risk, fungal contamination exposure, environmental variables, occupational exposure to fungi pattern.

RÉSUMÉ

Les travailleurs des gymnases avec des piscines présentent souvent des infections fongiques, telles que *Tinea pedis* et aussi des onychomycoses, dues à leur activité professionnel, parce qu'ils restent plus longtemps tout près des surfaces avec une certaine contamination fongique. Toute cette situation est due non seulement parce qu'ils sont ceux qui fréquentent plus souvent les places plus contaminées: des balnéaires, des vestiaires et des zones autour des piscines, mais aussi ils réalisent des activités aux pieds nus ou avec des chaussures très fermés et encore quelques fois avec des vêtements synthétiques. Tout cela emmène à une grande sudation ce qui aidera au développement fongique.

Un objective de ce travaille a été connaître le risque d'infection et/ou présence de lésion (*Tinea pedis* et des onychomycoses) dans les travailleurs des gymnases avec des piscines et leur éventuel rapport avec l'exposition à la contamination fongique (de l'air et des surfaces) dans leurs locaux de travail. On a décrit aussi des variables d'environnement et biologiques qui ont une certaine influence dans les infections fongiques dans tout l'environnement professionnel et aussi approfondir des éventuels associations entre ces même variables. On a encore reconnu des différences de la contamination fongique avant et après des lavages et désinfection de ces surfaces. Aussi on a trouvé des différences de contamination en Été et en Hiver.

Cet étude a un composante transversale, en visant la description des phénomènes de contamination fongique biologique et de l'environnement dans un environnement professionnel et l'étude des associations possibles entre les variables; une composante longitudinale dans laquelle ils étaient connus comme des variations saisonnières de la contamination fongique des surfaces, et même; un quasi-composante expérimentale, où elle a examiné la répartition des champignons surfaces avant et après le lavage et la désinfection.

Dans la composante transversale on été considérés 1 échantillons de 10 gymnases avec des piscines et un autre échantillon de au moins 10 professionnels de chaque établissement dans un total 124 travailleurs (75 hommes - 60,48% et 49 femmes - 39,52%). On a réalisé 258 prélèvements aux pieds des travailleurs et on a effectué en simultanée la validation par contamination fongique de l'environnement par 50 prélèvements de l'air et par 120 prélèvements de surfaces (60 avant et 60 après des lavages et des désinfections) et on a effectué leur traitement en laboratoire et l'identification fongique. On a fait aussi l'évaluation des variables de l'environnement, la température, l'humidité relative et la vitesse de l'air. On a remplie 10 tableaux

d'observation, avec l'objectif d'obtenir des informations sur les variables qu'influenceront l'exposition occupationnel aux souches fongiques, et encore 124 tableaux d'observation liée au prélèvement du matériel biologique, pour réaliser le registre des professionnels avec des lésions et des autres informations pertinentes pour une analyse laboratoire. Tous ces 124 travailleurs ont rempli un questionnaire au même temps que les prélèvements biologiques, afin de connaître quelques variables individuels et professionnels importants pour cet étude.

Dans un des établissements on a aussi étudié les différences fongiques des surfaces parmi avant et après les lavages et de la désinfection et encore parmi l'Été et l'Hiver. Dans ce même établissement on a réalisé 36 prélèvements des surfaces avant et 36 après des lavages et de la désinfection, pendant 6 jours différents de la semaine, pendant 6 semaines en chaque saison de l'année, dans un total de 72 prélèvements des surfaces.

On a encore créé et appliqué une méthode pour établir un standard d'exposition professionnelle au fungi sur les surfaces, afin de permettre la définition des niveaux semi quantitative d'estimation des risques d'infection fongique des travailleurs des gymnases avec des piscines. Pour le critère de Gravité, il a été considéré que la gravité de la contamination, et donc les possibles dommages, est étroitement liée aux espèces fongiques impliquées. Nous avons calculé la moyenne de la contamination fongique par chaque établissement avant le lavage et la désinfection afin d'établir les niveaux de Fréquence et, par rapport à l'Exposition, ont été créés pour regrouper les intervalles d'heures hebdomadaires consacrées à l'activité professionnelle en question.

Sur les 124 travailleurs qui ont participé à l'étude, 58 (46,8%) avaient des lésions visibles. Parmi ces 58, les Levures ont été les plus isolées (41,4%), suivis par des Dermatophytes (24,1%) et des Filamenteux Non Dermatophytes (6,9%). *Candida parapsilosis* and *Rhodotorula* sp. ont été les Levures les plus fréquemment isolées (20,2%); dans le cas des Dermatophytes, *Trichophyton rubrum* est le plus fréquent (55,5%) et pour les Filamenteux Non Dermatophytes, *Penicillium* sp. a été le plus isolé (15,6%), suivi par *Fusarium* sp. (12,5%).

En ce qui concerne la contamination fongique des surfaces, 37 champignons filamenteux ont été isolés. Le genre *Fusarium* est le plus fréquent avant et après le lavage et la désinfection (19,1% - 17,2%). Pour la levure, 12 levures différentes ont été identifiées, ayant été *Cryptococcus* sp. (40,6%) et *Candida* sp. (49,3%) les plus fréquents avant et après le lavage et la désinfection, respectivement.

En ce qui concerne la contamination fongique de l'air, on a identifié 25 différents champignons filamenteux, où les 3 genres les plus fréquemment isolés étaient *Cladosporium* (36,6%), *Penicillium* (19,0%) et *Aspergillus* (10,2%). Pour les levures, il a été identifié le genre

Rhodotorula (87,5%) et les espèces *Trichosporon mucoides* et *Cryptococcus unigutulatus* (12,5%).

On a vérifié une association, au niveau de signification de 5%, entre les lésions visibles et les heures hebdomadaires et entre les lésions visibles et la durée d'occupation, ce qui confirme l'influence de la durée de l'exposition aux facteurs de risque (contamination fongique dans le milieu de travail) pour la présence des lésions visibles chez les travailleurs exposés (*Tinea pedis* et onychomycose), en démontrant une relation entre l'exposition au facteur de risque dans ces études - l'exposition professionnelle aux champignons - avec les effets sur la santé.

Les variables environnementales évalué (température, humidité relative et la vitesse de l'air) ne modifient pas la contamination fongique de l'air et des surfaces; donc, n'a pas été démontré aucune relation statistiquement significative ($p > 0,05$). Cependant, il y a une influence du nombre d'occupants qui ont participé à chacun des établissements en moyenne des unités formant colonie par mètre carré sur la surface avant le lavage et la désinfection. Il n'y avait pas de corrélation entre les résultats quantitatifs de la contamination fongique de l'air et des surfaces des 10 établissements surveillés, cependant il existe des différences importantes, au niveau de signification de 10% entre la contamination fongique des surfaces et de la contamination fongique de l'air ($p < 0,1$), on a constaté que malgré 50% des niveaux les plus bas étaient plus élevés dans la contamination fongique de l'air, la contamination fongique des surfaces présentée une plus grande variabilité quantitativement.

En ce qui concerne les différences de la contamination fongique des surfaces dans les 10 établissements entre avant et après le lavage et la désinfection, il y avait seulement une réduction significative ($p < 0,05$) de la contamination fongique après le lavage et la désinfection dans les balnéaires et vestiaires pour les hommes par rapport aux levures.

Lors de l'établissement choisi, on a constaté que le rapport entre la contamination fongique et la température et l'humidité relative n'était pas significatif ($p > 0,05$) dans les deux saisons et aussi on n'a pas observé l'influence des occupants en moyenne des unités formant colonie par mètres carrés de surfaces avant le lavage et la désinfection dans les deux saisons de l'année.

Dans presque toutes les situations où on a vérifié des différences significatives entre les deux saisons, il y a eu une augmentation des unités formant des colonies par mètre carré en Hiver, à l'exception du total des unités formant des colonies par mètre carré avant le lavage et désinfection dans les balnéaires et vestiaires des hommes où il y a eu une augmentation en Été. On a également été constaté que seulement a eu une réduction de la contamination des

champignons après la désinfection de l'escalier d'accès en Hiver et dans les balnéaires et vestiaires des hommes en Été.

Avec la méthode pour établir standard d'exposition professionnelle au fungi sur les surfaces on a obtenu dans les 10 établissements, avec le Niveau de Risque Faible de 65 places (54,2%), avec le Niveau de Risque Moyen 23 places (19,2%) et 32 places avec le Niveau de Risque Élevé (26,6%). Près du jacuzzi et près de la piscine sont les lieux avec des plus évaluations de Niveau de Risque Élevé. Lors de l'établissement choisi, il a été constaté que, dans l'Été, après le lavage et la désinfection, un plus grand nombre de places évaluées comme présentant un Niveau de Risque Élevé et en Hiver on a constaté la situation inverse avec de nombreux points de Niveau de Risque Élevé avant le lavage et la désinfection. A côté de la piscine et les escaliers ont été les lieux avec plus grands classifications de Niveau de Risque Élevé en Été et en Hiver.

On a isolé, chez les travailleurs, des champignons communs aux isolés sur les surfaces. Avant le lavage et la désinfection, 30,3% des champignons ont été isolés sur les travailleurs et sur les surfaces et, après ces procédures, 45,5% des champignons ont été isolés fréquemment. Les levures les plus souvent isolées et les plus fréquentes avant et après le lavage et la désinfection des surfaces, et aussi dans les résultats d'échantillons biologiques prélevés sur les travailleurs, étaient du genre *Rhodotorula* et les espèces de *Candida parapsilosis*, ce qui permet confirmer que l'infection fongique des travailleurs est liée à la contamination fongique des surfaces.

On a conclu qu'il est nécessaire l'intervention en Santé Occupationnelle sous la surveillance de l'environnement et sous la surveillance de la santé, afin de réduire la prévalence des infections fongiques. Pour atteindre cet objectif, nous suggérons la mise en œuvre de mesures préventives, y compris: le contrôle de la contamination fongique des surfaces par des méthodes de lavage et de désinfection afin de minimiser la contamination fongique des surfaces, l'identification précoce de l'infection avec des prélèvements biologiques périodiques, notamment un protocole pour la surveillance de la santé, et aussi la conscience du sens de l'hygiène personnelle et le traitement des pathologies.

La méthode mise en place pour l'établissement d'un standard d'exposition professionnelle au fungi sur les surfaces, servira à estimer non seulement le risque d'infection fongique des travailleurs dans les gymnases avec des piscines, mais aussi pour faciliter l'établissement de valeurs de référence de champignons, l'application des mesures correctives immédiates et appropriées, et aussi la prévention des infections fongiques, non seulement dans les gymnases avec piscine, mais aussi dans d'autres contextes professionnels.

MOTS-CLÉS: travailleurs des gymnases avec piscine, des lésions fongiques, le risque d'infection fongique, l'exposition à la contamination fongique, les variables environnementales, standard d'exposition professionnelle au fungi.

INTRODUÇÃO

A maior parte das infecções fúngicas que ocorrem no Homem são adquiridas essencialmente através do ambiente a que está exposto. Estas infecções podem ser classificadas de acordo com os tecidos infectados e também através das características específicas do grupo dos organismos que causam a doença. As micoses superficiais, como as dermatomicoses (dermatofitias), são as infecções mais comuns da pele, do cabelo e também das unhas, pois apesar de algumas possuírem uma distribuição geográfica perfeitamente delimitada, a maioria é cosmopolita (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005; Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000). Os fungos que causam este tipo de patologia podem ser Dermatófitos, Leveduras e Fungos Filamentosos Não Dermatófitos que, dependendo da espécie envolvida, podem desencadear reacções inflamatórias graves (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

Diversos estudos que abordam a temática da contaminação fúngica incidem na qualidade do ar em ambientes interiores, procurando relacionar a exposição a determinados fungos com patologias do foro respiratório. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece 150 unidades formadoras de colónias (UFC) por metro cúbico (m^3) como o limiar a partir do qual se desenvolvem efeitos adversos na saúde, especialmente se forem encontradas espécies patogénicas, considerando inaceitável a proliferação de determinadas espécies em ambiente interior (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

A nível nacional, o Decreto-Lei nº 79/2006, de 4 de Abril, que aprova o Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios, estipula, para ambientes interiores, a concentração máxima de referência de 500 UFC/ m^3 no ar, sendo este valor muito superior ao estipulado como limiar pela OMS e, em relação à contaminação fúngica em superfícies, não existem referenciais legais nacionais. A dificuldade em estabelecer um método que permita conhecer a exposição profissional a fungos é uma das maiores barreiras para conhecer o impacto da exposição ocupacional. A interpretação dos resultados sobre a avaliação da exposição profissional a fungos é complexa, pois não existem limites estipulados e os conhecimentos científicos sobre a toxicologia precisam de ser aprofundados.

A maioria dos referenciais legais, técnicos e científicos, em ambos os contextos, ar e superfícies, não mencionam a identificação fúngica como complemento à quantificação fúngica, dificultando deste modo o diagnóstico de situação no que concerne à análise da contaminação fúngica existente. Segundo Sohnle (1996, citado por Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996), será

necessário investigar, não só referenciais quantitativos, mas também sobre as espécies a valorizar nos diferentes contextos profissionais e também de lazer. Espécies fúngicas diferentes têm implicações diversas no que respeita aos potenciais efeitos na saúde, estando os mesmos dependentes de uma grande diversidade de variáveis em matéria de susceptibilidade individual.

As variáveis ambientais, nomeadamente temperatura, humidade relativa e também o substrato nutricional do meio, poderão potenciar a disseminação fúngica nas superfícies contribuindo para a ocorrência das dermatomicoses, nomeadamente as dos pés, como é o caso da *Tinea pedis* e da onicomiose (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Estas poderão suceder devido à exposição profissional a fungos dos trabalhadores dos ginásios com piscina, sendo necessário, por isso, conhecer melhor as condições concretas de trabalho e, mais especificamente, caracterizar a exposição fúngica.

A lista nacional das doenças profissionais (Decreto-Regulamentar nº 76/2007, de 17 de Julho), no capítulo das doenças cutâneas menciona as dermatofitias cutâneas, da barba, do couro cabeludo e das unhas, sendo o respectivo factor de risco a exposição profissional a fungos. O mesmo diploma legal faz ainda referência, como trabalhos susceptíveis de provocar a doença, os realizados em piscinas ou em ambiente quente e húmido ou que impliquem o uso de vestuário ou calçado que provoquem a sudação excessiva e consequente maceração cutânea, como é o caso dos trabalhadores dos ginásios com piscinas.

Os profissionais do desporto partilham balneários, sendo por isso plausível que as infecções dos pés se disseminem nesses locais. As infecções fúngicas frequentes estão relacionadas não só com a maior exposição a fungos, mas também devido à maceração natural da pele e ao traumatismo da unha causadas pelas actividades desportivas em questão (Attie, Auger e Joly, 1990). Além disso, estes trabalhadores são os que, devido às características intrínsecas da sua actividade profissional, apresentam mais horas por dia de exposição aos agentes fúngicos, não só por serem os que mais frequentam os locais possíveis de estarem contaminados, como é o caso de balneários, vestiários e zona envolvente às piscinas, mas também porque muitas das actividades desenvolvidas são realizadas com os pés descalços.

O incremento de ginásios com piscinas devido à sua crescente procura, especialmente nos aglomerados populacionais de maior dimensão como é o caso de Lisboa (Marivoet, 2001), aliado à ubiquidade dos fungos nestes estabelecimentos ser favorecida pela acumulação de matéria orgânica, complexidade de construção, selecção de materiais, temperaturas altas e manutenção deficiente (Brandi, Sisti e Paparini, 2007; Detandt e Nolard, 1995), levou à formulação da seguinte questão de partida: Qual o risco de infecção e/ou lesão (*Tinea pedis* e

onicomicose) nos trabalhadores dos ginásios com piscina e a sua eventual relação com a exposição à contaminação fúngica (ar e superfícies) nos locais de trabalho?

O presente estudo pretendeu contribuir para o conhecimento da exposição profissional a fungos neste contexto ocupacional específico, facultando dados para uma adequada avaliação do risco e vigilância médica aos trabalhadores. A avaliação do risco permitirá identificar os locais de trabalho onde a exposição é mais crítica (risco mais elevado), definindo-a como prioritária em matéria de programas de intervenção preventiva. A identificação das variáveis ambientais que potenciam a exposição a fungos permitirá priorizar a intervenção em matéria de prevenção e o controlo dos factores de risco de natureza fúngica.

Este estudo, caracterizado por uma forte componente de trabalho de campo e laboratorial, envolveu uma equipa multidisciplinar da qual fizeram parte elementos da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa – Instituto Politécnico de Lisboa, da Escola Nacional de Saúde Pública – Universidade Nova de Lisboa e do Laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

I PARTE – ENQUADRAMENTO TEÓRICO

CAPÍTULO I

Aspectos gerais da Micologia

1 – Conceitos gerais de Micologia

Os fungos são células eucariotas, desprovidas de clorofila e que se reproduzem por esporos, estando incluídos, neste grupo, organismos de forma e dimensões muito variadas, conhecidos correntemente como leveduras, bolores, mofo e cogumelos (Freitas, 2000). São classificados num reino próprio, o Reino Fúngico e distinguem-se de outros organismos eucariotas por serem seres quimiorganoheterotróficos e, ainda, por apresentarem parede celular rígida que é composta por quitina e glucano e uma membrana celular em que o ergosterol substitui o colesterol (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

Os fungos leveduriformes, designados em linguagem corrente por Leveduras, são fungos unicelulares. Os outros, que constituem a maioria, são fungos filamentosos ou pluricelulares (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). Encontram-se descritas cerca de 100.000 espécies de fungos, que desempenham um papel importante na vida do Homem, quer de uma maneira benéfica, quer de um modo prejudicial. Os fungos são dos principais microrganismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, interferindo no ciclo do carbono, do azoto e de outros nutrientes da biosfera. São capazes de deteriorarem produtos e bens de consumo do Homem, tais como alimentos, tecidos, cabedais, metais e madeira (Freitas, 2000).

São utilizados em numerosos processos industriais de fabricação de pão, cervejas, vinhos e determinados tipos de queijos, sendo também utilizados na produção comercial de muitos ácidos orgânicos, de alguns fármacos, como a ergometrina e a cortisona, na obtenção de diferentes antibióticos, de que são exemplos a penicilina e a griseofulvina, e de substâncias imunossupressoras, como a ciclosporina (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990).

2 – Características fúngicas

Os fungos representam um grupo bastante diversificado de organismos, podendo ser saprófitas (organismos que vivem em matéria morta), simbiontes (organismos que vivem juntos e cuja associação permite vantagens mútuas), comensais (organismos que vivem uma relação muito próxima em que um beneficia da relação e o outro não beneficia nem é prejudicado) ou parasitas (organismos que vivem no hospedeiro ou dentro do hospedeiro, do qual ganham benefícios sem contribuir de alguma forma para o mesmo, em que no caso dos patogénicos a relação é lesiva para o hospedeiro) (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

Estes microrganismos emergiram nas últimas duas décadas como causa de doenças humanas, especialmente entre indivíduos que se encontram imunocomprometidos ou hospitalizados com doenças subjacentes. Entre estes grupos de doentes, os fungos possuem o papel de patogénicos oportunistas causando morbilidade e mortalidade consideráveis (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

2.1 - Estrutura fúngica

Considerando apenas os aspectos morfológicos, os fungos são separados em leveduriformes e em filamentosos (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). A estrutura vegetativa ou somática de um fungo denomina-se talo. Nos fungos filamentosos, o talo é constituído por filamentos ou hifas, do crescimento das quais resulta o micélio. Nestes fungos, o protoplasma pode ser contínuo e multinucleado, constituindo as hifas asseptadas ou cenocíticas. Nestas hifas pode observar-se o aparecimento, ocasional e irregular, de septos sem poros ou septos totais, que desempenham funções protectoras, como sejam a separação de zonas novas de zonas velhas da hifa, a delimitação de estruturas reprodutoras e o isolamento de zonas danificadas (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

As hifas, quando juntas, formam uma estrutura denominada de micélio. Quando estão em crescimento, em meio de cultura sólido, os fungos produzem hifas, denominadas hifas vegetativas, que crescem na superfície ou por baixo do meio, e também hifas que se projectam por cima da superfície do meio, as denominadas hifas aéreas. As hifas aéreas podem produzir estruturas especializadas designadas por conídios (elementos da reprodução assexuada). Os conídios são facilmente transportados pelo ar e servem para disseminarem os fungos (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998; Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

As hifas em que o citoplasma é interrompido regularmente por invaginações interiores da parede, denominados septos e que dividem as hifas em compartimentos ou “células”, são

designadas hifas septadas. Neste tipo de hifas, os septos são perfurados, permitindo a passagem do citoplasma e dos seus organitos através deles. A ultra-estrutura dos poros septais é um critério importante na classificação destes fungos. Também a composição química da parede é característica dos diferentes grupos taxonómicos, sendo os principais constituintes químicos os polissacáridos, associados a proteínas e lípidos. O tipo de polissacáridos varia entre os principais grupos, pelo que a análise química de fungos septados e leveduriformes mostra a presença de quitina e de glucanos (polímeros de glucose), enquanto a dos fungos asseptados apresenta uma mistura de quitina e quitosano, associados a ácidos glucorónicos, em vez de glucanos (Freitas, 2000). A membrana citoplasmática dos fungos é constituída, essencialmente, por esteróis, lípidos e proteínas (Strohl, Rouse e Fisher, 2001).

Vários fungos com importância clínica são denominados de dimórficos, devido ao facto de poderem existir na forma leveduriforme ou filamentosa, sendo o caso de alguns dos patogénicos humanos que podem apresentar a forma unicelular quando parasitam o hospedeiro e a forma de micélio quando crescem como saprófitas (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). A diferenciação de levedura para micélio faz-se como resposta a alterações de factores ambientais, nomeadamente de temperatura, de nutrientes, da presença de dióxido de carbono e de potenciais de oxi-redução. São exemplos de fungos dimorfos alguns dos fungos patogénicos específicos, como *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis* e *Penicillium marneffei* (Freitas, 2000; Fischer e Cook, 1998).

2.2 - Nutrição e metabolismo

Os fungos obtêm a sua energia a partir da oxidação de compostos orgânicos carbonados, como a glucose. Metabolicamente, os fungos são versáteis bioquimicamente, produzindo metabolitos primários como o ácido cítrico, etanol e glicerol e secundários como antibióticos (penicilina) e aflotoxinas. Em comparação com as bactérias, os fungos crescem lentamente, com a multiplicação de células a ocorrer em horas em vez de minutos (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

2.3 - Crescimento fúngico

O crescimento das hifas faz-se por alongamento do seu topo ou zona apical, e por ramificação lateral. No primeiro caso verifica-se, aquando do crescimento, uma acumulação de vesículas citoplasmáticas no ápice da hifa, sugerindo a implicação das mesmas no crescimento fúngico. Com efeito, os estudos realizados até hoje permitem-nos julgar que estas vesículas, provenientes do aparelho de Golgi, fundem com a membrana citoplasmática apical e libertam os

seus diferentes conteúdos, os quais contribuem para o alongamento da hifa (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990).

Embora ainda não se conheça exactamente como tudo se processa, sabe-se que existem vesículas que transportam enzimas responsáveis pela destruição das ligações parietais; outras, que transportam enzimas que intervêm na síntese da parede; enquanto outras, finalmente, são transportadoras de alguns dos precursores da parede celular. É da acção conjunta e concertada destas vesículas que o ápice da hifa pode ter uma plasticidade específica, permitindo a intervenção das enzimas de síntese e a inserção de alguns componentes pré-formados, de que resulta o aumento ou a extensão da superfície apical da parede fúngica. A ramificação parece ocorrer sempre que a zona apical acumula um volume crítico ou excessivo de citoplasma. Nesta altura, o seu núcleo alonga-se, divide-se e dá-se a formação de um septo que separa a célula em duas. Na penúltima célula (célula subapical) forma-se uma ramificação para a qual migram o citoplasma e o núcleo (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990).

A zona de crescimento apical (última célula) é composta pela extremidade da ponta da hifa que apresenta uma forma cupular, sendo nesta zona que a hifa aumenta a área da sua parede e o seu comprimento. Este processo é realizado através da inserção de precursores de quitina, ou de glucanos, que são lançados para o exterior da célula pelas vesículas que se acumulam na extremidade da hifa (Santos, Venâncio e Lima, 1998).

2.4 - Taxonomia dos fungos

A classificação tradicional dos fungos tem sido feita com base na morfologia comparativa das estruturas sexuais. Hoje, esta classificação está a ser revista, tendo em atenção os resultados obtidos pela aplicação das técnicas de sequenciação dos ácidos nucleicos e, muito especialmente, a dos genes do ácido ribonucleico (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

O conceito recente mais importante na classificação dos fungos foi a proposta de abolição de uma categoria individual para os muitos fungos que não têm reprodução sexuada conhecida. Com efeito, esses fungos eram classificados na divisão Deuteromycota (subdivisão Deuteromycotina). Com os dados ultra-estruturais da parede e dos septos fúngicos e a informação molecular, esta categoria tem vindo a ser rejeitada por alguns micologistas (Freitas, 2000).

O soma dos fungos, que pode ser unicelular ou filamentoso, é normalmente envolvido por uma parede celular, cuja composição química é variável e um factor importante na classificação dos fungos. A quitina é o único elemento parcial constante, encontrando-se ligada a outros polissacáridos, a proteínas e a lípidos. Tendo em conta estas e outras características são

apresentados os seguintes filos (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Guarro, Gene e Stchigel, 1999; Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005):

- *Zygomycota*, que compreende fungos saprófitas do solo e parasitas dos mamíferos e das plantas. As hifas são cenocíticas; a sua reprodução assexuada faz-se por aplanósporos; a reprodução sexuada, quando conhecida, faz-se normalmente por fusão de isogametângios, de qual resulta um zigosporângio, que contém um zigósporo;
- *Ascomycota*, que integra fungos saprófitas, simbioses e parasitas do Homem, dos animais e plantas. O seu soma pode ser unicelular, mas na maioria dos casos é filamentoso e septado. Os septos podem ser fechados por elementos especiais, denominados corpos de Woronin. Reproduzem-se assexuadamente por conídios e sexuadamente por ascósporos produzidos em ascos, estruturas semelhantes a sacos. Os ascos podem estar livres ou contidos no interior de estruturas especiais, denominadas ascocarpos;
- *Basidiomycota*, constituída por fungos saprófitas, simbioses e parasitas, cujo soma pode ser unicelular ou, como sucede na maioria dos casos, formado por micélio septado. Neste caso, os septos têm a forma especial e característica de barril. Podem também ter estrutura leveduriforme. A sua reprodução sexuada faz-se por basidiósporos, implantados exteriormente em basídios, cujas formas e tipos são importantes em taxonomia. Muitos destes fungos produzem os seus basídios em basidiocarpos;
- *Deuteromycota*, *que inclui fungos que podem ser saprófitas, simbioses ou parasitas. O seu soma pode ser unicelular ou filamentoso septado, podendo os poros septais serem fechados por corpos de Woronin. A única reprodução conhecida, a assexuada, faz-se através de conídios provenientes de diferentes células conidiogéneas. Tanto estas como o tipo de conídios são dois elementos decisivos no posicionamento taxonómico destes fungos. Embora não se lhes conheça reprodução sexuada, a maioria das características são semelhantes às do filo Ascomycota;*
- *Chytridiomycota*, divisão onde se encontram organismos com esporos móveis e que são sobretudo parasitas de algas e sem importância clínica. As evidências que comprovam ser espécies fúngicas devem-se à parede celular, enzimas e rotas metabólicas.

2.5 - Reprodução

Como já foi descrito, os fungos reproduzem-se através de esporos sexuais (reprodução sexuada) e assexuais (reprodução assexuada). A reprodução sexuada envolve a união de duas células ou de dois órgãos sexuais sexualmente compatíveis. Os fungos podem utilizar, simultaneamente, os dois modos de reprodução ou um ou outro isoladamente (Strohl,

Rouse e Fischer, 2001). Além destes tipos de reprodução, pode observar-se a chamada reprodução vegetativa, em que não são necessárias estruturas reprodutoras específicas, em que uma pequena parte de hifa, em meio próprio, é capaz de dar origem a um novo micélio. Os fungos que apresentam unicamente este tipo de reprodução vegetativa denominam-se *Mycelia sterilia* (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

A reprodução assexuada é normalmente a reprodução mais importante para a propagação da espécie, por se repetir várias vezes por ano. O estado assexuado ou imperfeito dos fungos é também designado como estado anamórfico do fungo. A formação dos esporos assexuados pode fazer-se de duas maneiras, nomeadamente dentro de estruturas unicelulares, dando origem a endósporos ou esporangiósporos ou externamente, a partir do soma fúngico, dando origem a exósporos ou conídios (Freitas, 2000; Fischer e Cook, 1998).

A reprodução sexuada implica a existência de três fases distintas, denominadas plasmogamia, cariogamia e meiose. Na plasmogamia verifica-se a união dos protoplasmas de duas células sexualmente compatíveis, dando origem a uma única célula com dois núcleos (célula dicariótica). A fusão dos dois núcleos, cariogamia, dá origem a um zigoto diplóide. Este, mais cedo ou mais tarde, sofre uma meiose que, reduzindo o número de cromossomas, devolve o carácter haplóide às quatro células formadas, as quais, posteriormente, podem sofrer uma ou mais mitoses (Freitas, 2000; Fischer e Cook, 1998).

Nos fungos homotáticos, as respectivas hifas são capazes de se diferenciarem em órgãos sexuais diferenciados e de se reproduzirem sexualmente sem ajuda de outro talo. Os fungos heterotáticos são auto-estéreis, necessitando de um outro fungo, sexualmente compatível, para se reproduzirem sexualmente. A forma sexuada ou perfeita de um fungo é também denominada de estado teleomórfico (Freitas, 2000; Fischer e Cook, 1998).

Os fungos dos filos *Zygomycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota* produzem esporos sexuais e assexuais (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). No entanto, o maior grupo de fungos que causa infecções no Homem são os pertencentes ao filo *Deuteromycota* e estes não produzem esporos sexuais. Apesar de os fungos, pertencentes aos filos *Zygomycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*, terem a capacidade de produzir esporos sexuais, é comum a sua referência utilizando a designação assexuada. Esta situação ocorre, pois o estado assexuado é isolado das espécies clínicas e o estado sexuado apenas ocorre mediante situações específicas em laboratório (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

2.6 - Patogenicidade fúngica

Apesar da diversidade existente no que concerne ao mundo fúngico, apenas aproximadamente 200 espécies possuem capacidade para causar infecções fúngicas. A capacidade de adaptação das espécies fúngicas aos diferentes microambientes é possível devido à sua capacidade de alteração no fenótipo e é através do crescimento das suas hifas (estruturas fúngicas) que se dá a penetração nos tecidos, inviabilizando a fagocitose realizada pelos macrófagos.

Contribuindo ainda mais para essa capacidade de adaptação, alguns tipos de fungos, como é o caso dos fungos dimórficos, possuem a habilidade de seleccionar a forma mais adequada para a progressão da infecção. Assim, as formas conhecidas como infectantes produzem factores de aderência para a fixação inicial, crescimento e mobilidade nos tecidos do hospedeiro, facilitando, desta forma, a infecção fúngica. Também a alteração fenotípica conseguida em fungos patogénicos, altera a superfície das moléculas antigénicas, permitindo modificações no hospedeiro, essenciais para o seu ciclo de vida *sterilia* (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

Apesar da exposição a fungos ser, na maior parte das vezes, accidental, muitos dos fungos que causam doença desenvolveram mecanismos que facilitam a sua sobrevivência e reprodução num ambiente hostil. Por exemplo, os Dermatófitos produzem uma enzima, a queratinase, que hidrolisa a proteína estrutural queratina. As Leveduras do género *Candida* tornam-se filamentosos quando invadem os tecidos, embora o papel da morfogénese na virulência seja desconhecido. Muitos dos fungos que causam micoses sistémicas são dimórficos; são fungos filamentosos na natureza que se adaptam a uma morfologia unicelular quando parasitam tecidos, como é o caso dos géneros *Blastomyces* e *Histoplasma*. *Cryptococcus neoformans*, elabora uma cápsula mucopolissacarídica, que constitui um factor de virulência importante (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

Genericamente, existem três tipos de efeitos patogénicos associados a espécies fúngicas e aos respectivos produtos metabólicos, nomeadamente (Freitas, 2000):

- 1 - Alergias: Este grupo de afecções é o resultado da interacção entre um hospedeiro sensibilizado e antígenos fúngicos provocando uma reacção imunológica aumentada. Esta situação ocorre com os esporos fúngicos disseminados pelo ar ou pode estar associada a elementos fúngicos que crescem comensalmente no hospedeiro. Os esporos fúngicos são causas comuns de asma extrínseca ou de outras manifestações alérgicas.
- 2 - Toxinfecções: Muito dos metabolitos secundários produzidos pelos fungos são bastante tóxicos para as células dos mamíferos. A doença poderá provir da ingestão de alimentos

com fungos saprófitas que se desenvolveram e, conseqüentemente, produziram toxinas extracelulares (micotoxinas).

- 3 - Micoses: Uma grande variedade de alterações dermatológicas pode ser verificada em peles infectadas, nomeadamente escamação, vesículas, pústulas e graves reacções inflamatórias. Microscopicamente, em cortes histológicos, as lesões são caracterizadas inicialmente pela acumulação de neutrófilos na pele infectada, seguida de proliferação epidérmica e infiltração de células mononucleares na derme. As doenças nesta categoria (micoses) têm uma base infecciosa. Os agentes causais possuem características que permitem actuar como patogénicos primários (Dermatófitos) ou oportunistas (Leveduras e Fungos Filamentosos Não Dermatófitos).

As fontes de infecção podem ser várias, mas a mais importante é a constituída por fungos saprófitas. Com efeito, são muitas as espécies susceptíveis de contaminar o Homem, cuja vida vegetativa se faz no solo ou nas plantas. Compreende-se, assim, o carácter endémico de algumas micoses como a histoplasmose e a coccidiodomicose. Já o contágio inter-humano é menos frequente, o que explica que as infecções fúngicas raramente sejam epidémicas. No entanto, tanto o Homem como os animais doentes comportam-se como reservatórios, contribuindo para a disseminação dos esporos. É o que acontece, por exemplo, com certos fungos antropofílicos, como *Microsporum audouinii* e *Trychophyton megninii* e com determinadas espécies zoofílicas, como *Microsporum canis* e *Microsporum equinum* (Freitas, 2000).

As infecções fúngicas podem ser classificadas de acordo com os tecidos infectados e também através das características específicas do grupo dos organismos que causam a doença. Estas classificações incluem as micoses superficiais, cutâneas e subcutâneas, as micoses endémicas e as micoses oportunistas (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

A ocorrência das micoses superficiais varia com a idade, o género, a etnia e os hábitos sócio-culturais. Como micoses superficiais consideram-se as dermatomicoses (dermatofitias), a candidose (candidíase) mucocutânea, a pitíriase versicolor, as pedras e a tinha negra. Os fungos associados com estas infecções superficiais incluem *Malassezia furfur*, *Exophiala werneckii*, *Piedraia hortae* e *Trichosporon* sp. (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). Os fungos que causam este tipo de micoses raramente induzem reacções imunitárias (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

As micoses cutâneas são infecções das camadas queratinizadas da pele, cabelo e unhas e que podem originar uma reacção do hospedeiro tornando-se sintomáticas. Os sinais e sintomas incluem comichão, descamação, cabelos partidos, manchas na pele e engrossamento e descoloração das unhas. Os agentes etiológicos, os Dermatófitos, são fungos classificados nos

gêneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*, sendo denominadas as infecções da pele de dermatomicoses. Denomina-se *Tinea unguium* a referente às infecções das unhas devido a Dermatófitos, enquanto as onicomicoses são devido a esses agentes e a outros não Dermatófitos como é o caso dos gêneros *Candida* e *Aspergillus* (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998; Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). Os fungos que causam este tipo de patologia podem ser Dermatófitos, Leveduras e Fungos Filamentosos Não Dermatófitos (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

Tanto a *Tinea pedis* como a onicomicose podem ter consequências clínicas severas como, por exemplo, infecções bacterianas secundárias, desfiguramento estético e lesões crônicas devido a insucesso terapêutico. A onicomicose na unha do pé, que é cerca de 4 a 7 vezes mais frequente do que a da unha da mão (Szepietowski, 2004a), pode ainda provocar dificuldades na utilização de sapatos, a marcha e a prática da actividade física (Drake, Patrick e Fleckman, 1999; Erbagci, Tuncel e Zer, 2005). Nos atletas ou profissionais do desporto, ambas as patologias, podem causar maior incapacidade física causando, por esse motivo, consequências mais significativas (Díaz, Guillen e Carrero, 2000).

As micoses subcutâneas envolvem as camadas profundas da pele, incluindo a córnea, músculos e tecidos e são causadas por diversas espécies fúngicas que têm acesso às camadas profundas através de inoculação traumática, causando a formação de abscessos e úlceras. Estas infecções podem ser provocadas por fungos hialinos, como *Acremonium* sp. e *Fusarium* sp. e por fungos pigmentados, como *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. e *Exophiala* sp. As micoses subcutâneas tendem a manter-se localizadas e raramente passam a sistêmicas (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005). Os fungos associados a este tipo de micoses têm geralmente baixa infecciosidade e as infecções causadas por estes organismos estão geralmente associadas com alguma forma de lesão traumática (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

As micoses endémicas são infecções fúngicas provocadas pelos fungos dimórficos patogénicos *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatidis*, *Coccidioides immitis* e *Paracoccidioides brasiliensis*, que possuem dimorfismo térmico, ou seja, existem como Leveduras a 37°C e como fungos filamentosos a 25°C e são geralmente confinados a regiões geográficas e a nichos ecológicos muito específicos. As micoses endémicas são muitas vezes referidas como micoses sistêmicas, pois os microrganismos são patogénicos e podem causar infecções em indivíduos saudáveis. Recentemente, o fungo dimórfico *Penicillium marneffei* foi adicionado à lista de fungos que causam micoses endémicas. Todos estes agentes produzem infecções primárias nos pulmões, com consequente disseminação a outros órgãos e tecidos (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

As micoses oportunistas são infecções causadas por fungos que são normalmente encontrados como comensais humanos ou no ambiente. Com a excepção da espécie *Cryptococcus neoformans*, estes organismos exibem virulência limitada e causam infecções em indivíduos que estão debilitados, imunocomprometidos ou que têm dispositivos protésicos implantados ou cateteres vasculares. Teoricamente, todos os fungos podem ser patogénicos oportunistas e a lista destes tem vindo a aumentar todos os anos. Os fungos oportunistas mais comuns são as Leveduras *Candida* sp. e *Cryptococcus neoformans* e os Fungos Filamentosos Não Dermatófitos *Aspergillus* sp. e *Pneumocystis jiroveci*. Devido à sua virulência inerente, *Cryptococcus neoformans* é várias vezes considerado como patogénico sistémico. Apesar destes fungos poderem causar infecções em indivíduos normais, são mais frequentemente considerados como patogénicos oportunistas na população imunocomprometida (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

No caso específico dos Dermatófitos, estes estão providos de proteases com o objectivo de realizar a digestão da queratina em oligopéptidos e aminoácidos tornando-os assimiláveis. Além disso, as proteases do hospedeiro podem ser induzidas a contribuir na própria lesão (Vermout, Tabart e Baldo, 2008). A espécie *Trichophyton rubrum* (*T. rubrum*) provoca grandes alterações estruturais e funcionais na epiderme do hospedeiro, sendo também esta uma forma de fragilizar o hospedeiro perante a sua acção (Jensen, Pfeiffer e Akaki, 2007).

Os fungos, durante o seu processo de degradação dos nutrientes, libertam metabolitos secundários denominados de micotoxinas que utilizam como mecanismos de defesa contra outros microrganismos, incluindo outros fungos. Os sintomas relatados dependem do tipo, natureza e extensão do contacto e podem incluir: irritação da pele e mucosas, náuseas, cefaleias e efeitos cognitivos e neurofisiológicos e, ainda, efeitos cancerígenos (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

Além das micotoxinas, o ergosterol, polímero da glucose de elevado peso molecular, que se encontra nas paredes celulares dos fungos e também das bactérias e das plantas, foi evidenciado, em estudos recentes, como irritante respiratório, podendo ser também utilizado como indicador ambiental da presença fúngica (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001), não permitindo, no entanto, a determinação das espécies fúngicas presentes (Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

Ao nível da pele, a presença do fungo não desencadeia necessariamente a micose se não estiverem presentes as condições suficientes para que ela exista, pois a infecção depende de variáveis ligadas ao agente, ao hospedeiro e também ao ambiente (Sadahiro, 1998; Svejgaard, 1995).

É possível verificar-se a coexistência entre *Tinea pedis* e onicomicose, tendo esta situação sido relatada no estudo realizado por Szepletowski, Reich e Garlowska (2006), na Polónia, em que dos 933 pacientes de dermatologia, 33,8% apresentaram ambas as patologias, representando um terço da amostra analisada. Outros estudos desenvolvidos apresentaram também resultados semelhantes em relação à coexistência de ambas as patologias (Szepletowski, 2004b; Cheng e Chong, 2002; Ungpakorn, Lohapathan e Reangchainam, 2004).

É essencial o exame micológico em todos os casos suspeitos de micoses, não só para evitar situações de coexistência de vários tipos de *Tinea*, mas também para o conhecimento da incidência desta patologia e dos agentes implicados. A identificação das espécies tem objectivos epidemiológicos que são extremamente úteis na detecção de surtos familiares e de portadores animais ou humanos tendo implicações terapêuticas e preventivas (Lopes, Velho e Amorim, 2002). A análise epidemiológica das infecções fúngicas poderá contribuir para o conhecimento dos possíveis reservatórios, as vias de transmissão e os factores de risco, possibilitando a implementação de estratégias preventivas e de diagnósticos mais eficazes (Monzón de la Torre, Cuenca-Estrella e Rodríguez-Tudela, 2003).

Existe uma grande diversidade de formas clínicas de *Tinea pedis* e onicomicose e respectivos agentes etiológicos que podem ser Dermatófitos, Leveduras e Fungos Filamentosos Não Dermatófitos (FFND). A maioria dos autores diagnostica como agentes mais frequentes os Dermatófitos (80 a 90%), seguidos pelas Leveduras (5 a 17%) e por fim FFND (2 a 12%) (Haneke, 1991; Kaur, Kashyap e Bhalla, 2008; Kemna e Elewski, 1996; Perca, Ramos e Garau, 2000; Szepletowski, Reich e Garlowska, 2006; Weitzman e Summerbell, 1995).

2.7 - Dermatófitos

Os fungos Dermatófitos são frequentemente divididos em três grandes grupos, com base no seu habitat natural e preferência em relação ao hospedeiro. Assim, existem as espécies geofílicas, geralmente existentes no solo e que ocasionalmente podem ser patogénicas para o Homem; espécies zoofílicas que preferem os animais para hospedeiro, mas também podem infectar os humanos; e as espécies antropofílicas que são tipicamente patogénicas para o Homem (Aly, 1994; Havlickova, Czaika e Friedrich, 2008).

Esta classificação é importante, pois o agrupamento permite descrever os reservatórios destes microrganismos, permitindo perceber como ocorre a exposição e também porque alguns dos elementos dos diferentes grupos podem possuir características clínicas em comum. Em particular, as espécies antropofílicas tendem a produzir menos inflamação e mais infecções crónicas que os elementos dos outros grupos, sugerindo que este grupo está mais adaptado ao

Homem, como hospedeiro, do que as espécies dos outros grupos (Sohnle, citado por Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996; Havlickova, Czaika e Friedrich, 2008). Exemplos de espécies que têm como único hospedeiro o Homem (antropofílicas) são: *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum ferrugineum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton soudanense* e *Trichophyton violaceum* (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998; Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005).

Os Dermatófitos antropofílicos são os que produzem o maior número de infecções no Homem, sendo estas por vezes disseminadas entre pessoas através do contacto com escamas de pele infectada provenientes de indivíduos infectados. Este tipo de transmissão geralmente ocorre em instalações de utilização colectiva, como por exemplo: balneários, piscinas ou em dormitórios militares (Sohnle, citado por Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996).

Os três géneros de Dermatófitos, *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum* contêm, juntos, mais de 40 espécies. Estes microrganismos são similares, mas conseguem diferenciar-se uns dos outros pela morfologia das colónias, pelo aspecto microscópico e através de testes bioquímicos. As várias espécies de Dermatófitos produzem uma enzima extracelular denominada de queratinase que consegue digerir a queratina da estrutura córnea, cabelo e unhas, de modo a que esta possa ser utilizada como fonte de nutrientes para os mesmos (Sohnle, citado por Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996; Havlickova, Czaika e Friedrich, 2008).

Os Dermatófitos são microrganismos saprófitas que alcançaram a capacidade de degradar a queratina existente no solo, utilizando-a como fonte de nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, denominando-se, por isso, de queratinofílicos (Aly, 1994; Gughani, 2002; Singh, Mishra e Kushwaha, 2009; Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000). Estes fungos, além de demonstrarem possuir actividade queratinofílica *in vitro*, são também queratinolíticos, pois a degradação da queratina foi experimentalmente provada, verificando-se também que invadem tecidos *in vivo* provocando dermatomicoses (Ulfig, 2000).

Alguns Dermatófitos evoluíram gradualmente para parasitarem tecidos queratinosos de animais como, por exemplo, *Microsporum nanum* em porcos e *Trichophyton quickeanum* em ratos. Crê-se que os Dermatófitos antropofílicos evoluíram dos fungos zoofílicos, em que alguns destes se adaptaram à queratina humana e foram perdendo a sua capacidade para digerir a queratina animal. A selectividade de *Microsporum audouinii* e de *T. rubrum* pode ter-se desenvolvido desta forma, pois raramente infectam animais. No entanto, alguns Dermatófitos mantiveram a afinidade tanto para a queratina de animais como para a dos humanos como, por exemplo, *Microsporum canis* (*M. canis*) e *Trichophyton mentagrophytes* (*T. mentagrophytes*) (Aly, 1994).

Existem, no entanto, algumas especificidades entre os Dermatófitos como, por exemplo, o facto dos três géneros, *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, atacarem a pele, *Microsporum* não infectar as unhas e *Epidermophyton* não infectar o cabelo (Strohl, Rouse e Fischer, 2001). Por este motivo, a indicação do produto biológico colhido é o primeiro passo para a identificação de Dermatófitos (Greer, 1994).

Os Dermatófitos zoofílicos são os que vivem normalmente em animais, mas que podem parasitar igualmente o Homem, como acontece com *M. canis* e *Trichophyton equinum*, dois fungos cosmopolitas. *M. canis* tem, como hospedeiros habituais, o cão e o gato, enquanto o segundo tem o cavalo. Contudo, ambos são capazes de desencadear infecções na pele humana (Fischer e Cook, 1998).

A frequência de isolamento das espécies de Dermatófitos antropofílicos tem vindo a modificar-se devido à melhoria das condições de higiene e socioeconómicas e imigração de indivíduos oriundos de áreas endémicas; por outro lado, tem vindo a aumentar o número de dermatomicoses zoofílicas devido à adopção cada vez mais frequente de animais domésticos (Lopes, Velho e Amorim, 2002). O conhecimento da origem antropofílica ou zoofílica dos Dermatófitos poderá ser útil para estabelecer medidas profilácticas como, por exemplo, o tratamento dos animais de estimação cujos donos desenvolveram infecções fúngicas (Chabasse e Pihet, 2008; Robert e Pihet, 2008).

Em relação à distribuição geográfica destes fungos, esta está dependente de vários aspectos, nomeadamente a faixa etária, factores genéticos, condições climáticas, migração, contacto com animais e exposição em locais públicos como piscinas e balneários. Estes factores poderão favorecer, isoladamente ou de forma conjunta, a penetração do Dermatófito no hospedeiro (Aquino, Constante e Bakos, 2007)

Num estudo realizado na Tailândia, por Handog e Dayrit (2005) e noutro estudo realizado na Polónia, por Szepietowski, Reich e Garlowska (2006), *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* foram os Dermatófitos predominantes. Noutro estudo realizado na Índia, em 88 indivíduos com onicomicose, os mesmos géneros foram também os mais frequentes (Veer, Patwardhan e Damle, 2007). Também na Índia, num estudo realizado a 91 indivíduos, *T. rubrum* foi a espécie mais comum, destacando-se de outros Dermatófitos com uma prevalência de 23,1% (Garg, Venkatesh e Singh, 2004). *T. rubrum* apresenta-se ainda como espécie predominante na Europa do Norte e Central, enquanto que *T. mentagrophytes* tem sido a espécie mais predominante na Polónia (Korstanje e Staats, 1995). Na Coreia, num estudo realizado a crianças, *T. rubrum* foi também o mais isolado como agente causal de *Tinea pedis* (Jang, Chi e Choi, 2000), comprovando a sua vasta distribuição geográfica.

Num estudo micológico realizado por Borman, Campbell e Fraser (2007), que decorreu entre 1980 e 2005 no Reino Unido, constatou-se que as frequências relativas de isolamento de *M. canis*, *Trichophyton verrucosum*, *T. mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum* (*E. floccosum*), decresceram em 90%. Pelo contrário, as contribuições de *Trichophyton tonsurans* e *Trichophyton violaceum* no total de Dermatófitos isolados aumentaram 100% no mesmo período. Finalmente, *T. rubrum* e *Trichophyton interdigitale* compreenderam 80% de todos os Dermatófitos isolados em 1980 e 90% dos isolamentos em 2005. Este mesmo estudo suporta outras evidências, nomeadamente que a espécie antropofílica *T. rubrum* continua a dominar relativamente a todas as outras espécies fúngicas isoladas no Reino Unido e que é tipicamente o agente causal de doença de pés, mas que pode disseminar-se para as mãos e, mais frequentemente, para as unhas dos pés. De salientar, que a outra espécie fúngica mais comum, *Trichophyton interdigitale*, é também tipicamente um agente causal de lesões nos pés.

Ainda na Europa, num estudo realizado na Grécia, mais especificamente na ilha de Creta, a *Tinea pedis* foi a dermatomicose mais comum, tendo *T. rubrum* sido a espécie mais frequente, seguida da espécie *M. canis* (Maraki e Tselentis, 1998). Em Itália, a situação foi inversa, pois *M. canis* foi a espécie com maior frequência de isolamento, seguida da espécie *T. rubrum*. Provavelmente esta última situação deveu-se ao facto de a dermatomicose mais comum ter sido a *Tinea corporis*, tendo a *Tinea pedis* apresentado frequência de apenas 6,8% no total das dermatomicoses. Contudo, nos casos de *Tinea pedis*, a espécie *T. rubrum* foi isolada em 48,1% dos casos (Mercantini, Moretto e Palamara, 1995). Também em Itália, mas em Calgari, 51,5% dos casos de *Tinea pedis* foram causados por *T. mentagrophytes*, mas a espécie fúngica mais frequentemente isolada em todas as dermatomicoses foi, novamente, *T. rubrum* (Aste, Pau e Aste, 2003). No caso da onicomicose, também em Itália, num estudo retrospectivo, das 4046 onicomicoses com cultura positiva, 2490 (87,1%) foram causadas por *T. rubrum* e apenas 286 (10%) foram provocadas por *Trichophyton interdigitale* (Romano, Gianni e Difonzo, 2005).

Num estudo epidemiológico, que incidiu sobre as dermatofitoses em Espanha, de Abril a Junho de 2001, verificou-se que a *Tinea unguium* foi a mais usual e a espécie fúngica mais frequentemente isolada foi *T. rubrum*, seguida de *T. mentagrophytes* (Monzón de la Torre, Cuenca-Estrella e Rodríguez-Tudela, 2003).

Na América do Norte, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* são os fungos patogénicos mais associados às onicomicoses (Summerbell, 1997). Em países com clima quente e em outras regiões geográficas, outras espécies diferentes de Dermatófitos podem estar envolvidas; no entanto, *T. rubrum* continua a ser a mais isolada. Num estudo realizado no Irão, num total de 17.573 colheitas realizadas entre 2000 e 2005, *T. rubrum* foi o Dermatófito mais comum em

casos de onicomicose e de *Tinea pedis* (Bassiri-Jahromi e Khaksari, 2009). Na Líbia (Ellabib, Agaj e Khalifa, 2002) e no Paquistão (Bokhari, Hussain e Jahangir, 1999), as Leveduras do género *Candida* são a causa dominante de onicomicose nas mulheres, enquanto nos homens as infecções são causadas por Dermatófitos, designadamente: *Trichophyton violaceum*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. canis*.

Num estudo realizado no Brasil por Aquino, Constante e Bakos (2007), em que se pretendia conhecer a prevalência de dermatofitoses, foram colhidas 5.077 amostras biológicas, em que 2.033 (40%) foram positivas para Dermatófitos, sendo *T. rubrum* a espécie mais isolada (62,4%) entre os Dermatófitos, seguida de *T. mentagrophytes* (18,2%). Em vários estudos realizados no Brasil, *T. rubrum* apresenta a maior frequência de isolamento (Mezzari, 1998; Santos, Negri e Wagner, 1997; Costa, Passos e Sousa, 2002; Ruiz e Zaitz, 2001; Zaitz, Campbell e Marques, 1998).

T. mentagrophytes aparece em alguns estudos logo a seguir a *T. rubrum*, podendo justificar-se devido ao facto de este último apresentar melhor capacidade de adaptação, tendo em conta que apresentam as mesmas características ecológicas. Outro aspecto a considerar é que a espécie *T. mentagrophytes* produz lesões inflamatórias que se podem curar espontaneamente (Ruiz e Zaitz, 2001). No entanto, a mesma espécie foi a mais frequente, dos 71 casos em que foram isolados Dermatófitos num estudo realizado na Arábia Saudita, em segundo lugar *M. canis*, e, apenas em terceiro, *T. rubrum* (Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi, 2008).

Lunder e Lunder (1992) referem que infecções provocadas por *M. canis* têm-se revelado um problema epidemiológico sério na Europa, devido ao controlo sanitário inapropriado de animais de estimação como, por exemplo, os gatos. Seebacher, Bouchara e Mignon (2008) constataam uma situação epidemiologicamente insólita em relação à espécie *E. floccosum*, pois em 1920/30 era o agente etiológico mais frequente de dermatomicoses na Alemanha; em 1950, a sua frequência era de 5 – 6% e, em 1990, era de apenas 1%. Esta situação reflecte-se em quase toda a Europa, com excepção da Polónia, Itália e Grécia que, em 1980/90, ainda apresentavam frequência de 10% para esta espécie. Em diferentes países, estudos recentes têm vindo a verificar que a espécie *T. rubrum* apresenta as maiores frequências, colocando-se aqui uma questão muito importante sobre se as formas de contágio têm sido diferentes de forma a justificar a substituição, em relação às respectivas prevalências, de uma espécie por outra.

Svejgaard, em 1998, identifica os três principais factores responsáveis pela distribuição de Dermatófitos na Europa, nomeadamente: precárias condições sócio-económicas nos países do Leste da Europa; áreas urbanas com bastante densidade populacional e consequentemente

diversas actividades sociais, incluindo o viajar e actividades desportivas que promovem a disseminação de *T. rubrum*; e a migração de população proveniente de ex-colónias europeias que potenciam a introdução de novas espécies fúngicas no Continente Europeu.

Em Portugal, segundo o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2007), mais especificamente o Laboratório de Micologia, registaram-se em 2002 aproximadamente 250 análises e em 2006 verificou-se mais do dobro das análises, ou seja, perto de 600. Dessas análises, realizadas em 2006, 48% dos casos de *Tinea pedis* e onicomicose foram causadas por Dermatófitos e as restantes 52% por Leveduras e FFND. Constatou-se também que, no mesmo ano, as duas espécies de Dermatófitos que se evidenciaram pelo número de casos de doença provocados, foram *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*.

Num estudo realizado em Braga (Valdigem, Pereira e Macedo, 2006) em 10.003 indivíduos, considerando as amostras positivas, *T. rubrum* foi isolado em 882 (37,4%) dos casos. Se analisarmos apenas as onicomicoses, esse número desce para 105 (72,4%) casos. Neste estudo verificou-se que, apesar de esta espécie ter sido a mais frequente, não tem a mesma expressão que no Canadá (Gupta e Summerbell, 1998). Noutro estudo, realizado num hospital do Porto, a espécie *T. rubrum* foi a espécie predominante em todos os locais anatómicos, apresentando 51,4% de frequência de isolamento, tendo-se constatado que foi a espécie mais frequente entre os indivíduos com 16 e os 50 anos (Lopes, Velho e Amorim, 2002).

Em Portugal, *T. rubrum* é também o agente principal das dermatomicoses, cuja percentagem oscila próxima dos 50%. Este agente está associado a infecções crónicas na zona crural, pés e unhas, motivadas e favorecidas pela hipersudorese relacionada com o uso de vestuário e calçado oclusivos e também pelo uso comunitário de piscinas, saunas e ginásios (Lopes, Velho e Amorim, 2002). As variações regionais mais significativas verificaram-se em relação à segunda espécie mais frequentemente isolada: *M. canis* nos distritos de Braga e Porto (Duarte, Macedo e Estrada, 2000), *Trichophyton megninii* no distrito de Coimbra (Velho, Tomé e Boaventura, 1996) e *T. mentagrophytes* em Lisboa (Rodrigo, 1998; Pinto, Tapadinhas e Moura, 1994). No entanto, no estudo realizado por Teles e Rosado (1989), que envolveu 123 trabalhadores de uma fábrica de montagem de automóveis na zona de Setúbal, verificou-se que em 31% foi isolado *T. mentagrophytes* e em apenas 15% foi isolado *T. rubrum*.

Ainda em Portugal, *M. canis* foi o agente habitual das tinhas do couro cabeludo nas crianças de raça caucasiana. A elevada incidência é explicada pelo facto de esta espécie ser um Dermatófito zoofílico de animais domésticos como cães e, principalmente, gatos que fazem parte do ambiente familiar das zonas urbanas (Lopes, Velho e Amorim, 2002). Na região de Lisboa, as espécies de importação, *Microsporum audouinii* e *Trichophyton soudanense*, são a causa

principal das tinhas do couro cabeludo nas crianças de raça negra. A sua frequência tem vindo a aumentar, ocupando uma posição paralela à dos agentes habituais, devido à imigração crescente de indivíduos oriundos de África (Rodrigo, 1998; Pinto, Tapadinhas e Moura, 1994).

Importante referir que as dificuldades de diagnóstico de Dermatófitos assentam na ausência de uniformização na colheita e processamento de espécies clínicas. Os métodos de colheita (tendo em conta o local e o tipo de lesão) os métodos de diagnóstico directo e cultural e a identificação de espécies divergem nos diferentes laboratórios, sendo por isso necessário continuar a investigar em todas estas etapas (Robert e Pihet, 2008).

2.7.1 - Patologias provocadas por fungos Dermatófitos

A utilização da queratina, pelos Dermatófitos, ocorre através das enzimas, nomeadamente elastases, colagenases e proteases. No entanto, as principais manifestações da doença parecem depender da resposta do hospedeiro aos antigénios fúngicos (Freitas, 2000). Os Dermatófitos têm também locais preferenciais de infecção, nomeadamente os pés, virilhas e unhas dos pés, verificando-se ainda mais especificidades no que concerne a algumas espécies como, por exemplo, o facto de alguns tipos de *Tinea pedis* condicionarem as espécies mais frequentes: *T. rubrum* é a espécie mais frequente na *Tinea pedis* *mocassin* e na *Tinea pedis* *interdigital* ambas as espécies, *T. mentagrophytes* e *T. rubrum*, são igualmente importantes (Korstanje e Staats, 1995).

As dermatomicoses são, talvez, as micoses mais contagiosas, sendo o contágio alcançado indirectamente através de cabelos parasitados, de escamas do epitélio ou de objectos contaminados, enquanto o contágio directo ocorre só raramente. A lesão típica da dermatomicose ou tinha caracteriza-se pelo seu aspecto circular, de bordos irregulares e inflamatórios, denominada impingem. A localização destas lesões no corpo humano vai corresponder à designação da tinha. Assim, para além da tinha do couro cabeludo (*Tinea capitis*), existe ainda a tinha do corpo (*Tinea corporis*), a tinha dos pés (*Tinea pedis*), a tinha das mãos (*Tinea manuum*), a tinha da barba (*Tinea barbae*) e a tinha genital (*Tinea cruris*) (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

Em relação à *Tinea capitis*, várias espécies dos géneros *Trichophyton* e *Microsporum* têm sido isoladas do escalpe de lesões, dependendo as espécies predominantes da localização geográfica do paciente. As manifestações da doença podem ir desde pequenas peladas até à afectação de todo o couro cabeludo com extensiva perda de cabelo (Strohl, Rouse e Fisher, 2001).

Na *Tinea corporis*, conhecida na bibliografia internacional como *ringworm*, os organismos mais isolados são *E. floccosum* e várias espécies dos géneros *Trichophyton* e *Microsporum*. As lesões aparecem sob a forma de anéis com o interior em descamação. O perímetro do anel, onde se encontra o crescimento fúngico activo, encontra-se geralmente inflamado e vesiculado. Apesar de qualquer parte do corpo poder ser afectada, as lesões aparecem em zonas do tronco sem pêlo (Strohl, Rouse e Fisher, 2001). Esta infecção começa, normalmente, pelo contacto de um artrósporo com a queratina da pele glabra de um hospedeiro susceptível. Após o período de incubação, o esporo germina e desenvolve-se centrifugamente na camada córnea, dando origem a uma lesão arredondada, de bordos vesiculosos, resultantes da reacção inflamatória do hospedeiro, de centro descamativo e aparentemente “curado”. É esta a lesão que se denomina, vulgarmente, por impigem, herpes circinado ou *ringworm* como já foi referido (Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

Em relação à *Tinea cruris*, os organismos que a causam são *E. floccosum* e *T. rubrum*. As manifestações são semelhantes à *Tinea corporis*, mas as lesões ocorrem na zona das virilhas podendo alargar-se para a zona dos genitais (Strohl, Rouse e Fisher, 2001).

No caso da *Tinea pedis* (pé de atleta), os organismos mais frequentemente isolados de tecidos infectados são *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *E. floccosum*. Inicialmente, o tecido infectado encontra-se entre os dedos, mas pode disseminar-se até às unhas, tornando-as amarelas e quebradiças. As fissuras na pele podem levar a infecções bacterianas secundárias com as consequentes infecções. Outra manifestação da *Tinea pedis* é a reacção escondida, em que as lesões na pele (vesículas) se desenvolvem em áreas longe da zona infectada como, por exemplo, nas mãos. Tem-se vindo a especular sobre se esta situação se deve à circulação dos antígenos fúngicos no organismo (Strohl, Rouse e Fisher, 2001).

Os Dermatófitos podem ainda infectar as unhas, dando origem a onicomicoses dermatofíticas, estando muito mais associados a infecções nas unhas dos pés do que nas mãos (Greer, 1995). De um modo geral, a origem destas micoses deve-se à existência de lesões em áreas próximas, nomeadamente nos espaços interdigitoplantares e interdigitopalmes, que actuam como fonte de infecção (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998). O microrganismo mais frequente que provoca esta patologia é *T. rubrum*, provocando o espessamento e a descoloração das unhas. O tratamento deve ser contínuo durante três ou quatro meses até toda a parte infectada da unha crescer e ser cortada (Strohl, Rouse e Fisher, 2001).

Embora raramente, os Dermatófitos podem penetrar a derme e formarem nódulos granulomatosos subcutâneos, como acontece com *T. rubrum* e *Trichophyton violaceum*. Fungos

do género *Microsporum* são capazes de invadir os tecidos subcutâneos e formar grãos branco-amarelados, de 800-500 µm de diâmetro, característicos dos micetomas (Freitas, 2000).

Um aspecto relevante para a disseminação da infecção é o facto de ser possível isolar Dermatófitos em indivíduos sem lesões aparentes. Através de infecção experimental no Homem, verificou-se que o período de incubação da doença pode ir até 36 semanas, ficando assim comprovado que existem portadores assintomáticos (Attye, Auger e Joly, 1990). Num estudo realizado por Oyeka e Ugwu (2002), levado a cabo na Nigéria, foram isolados Dermatófitos dos pés dos sujeitos apesar dos mesmos não apresentarem lesão, sendo os autores também de opinião que se iria desenvolver lesão mais tarde. No estudo realizado por Becerril-Chihu, Bazan-Mora e Lopez-Martinez (1999), os Dermatófitos foram isolados em 7% de crianças com, aparentemente, pés saudáveis.

Portadores são capazes de contaminar as superfícies com que entram em contacto e potenciar a disseminação destas espécies fúngicas. Devido ao facto de existirem portadores assintomáticos não se deve descurar a vigilância epidemiológica também de indivíduos sãos, bem como as respectivas medidas de controlo (Monzón de la Torre, Cuenca-Estrella e Rodríguez-Tudela, 2003).

2.8 - Leveduras

Em diversos estudos realizados, as Leveduras apresentam maior incidência como agentes etiológicos das onicomicoses do que os Dermatófitos (Brilhante, Cordeiro e Medrano, 2005; Pontes, Lima e Oliveira, 2002). As Leveduras como, por exemplo, a espécie *Candida albicans* (*C. albicans*), apresentam grande capacidade patogénica provocando candidoses na pele e com mais frequência nas unhas.

Infecções causadas por várias espécies do género *Candida* têm sido reportadas de forma crescente em relação aos locais do corpo afectados. Vários casos de infecções por *Candida* não fornecem evidência suficiente para confirmar o diagnóstico, no entanto, têm-se verificado, sem contestações, várias infecções devido às espécies *C. albicans*, *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), *Candida tropicalis*, *Candida viswanathii*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii* e *Candida krusei*. Estas sete espécies são, por isso, as que têm mais atenção como patogénicas potenciais, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (Odds, 1988).

Algumas espécies, diferentes das anteriores, têm sido isoladas várias vezes de produtos biológicos de foro clínico, o suficiente para estarem associadas ao Homem e, por isso, como potenciais agentes de doença. Estas espécies são *Candida catenulata*, *Candida famata*, *Candida inconspicua*, *Candida intermédia*, *Candida lusitanae*, *Candida norvegensis*, *Candida*

rugosa, *Candida zeylanoides*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula rubra* e *Saccharomyces cerevisiae*. Entre as Leveduras com importância industrial, apenas a *Candida tropicalis* tem patogenicidade significativa (Odds, 1988).

Candida albicans pode inibir o crescimento de outros fungos patogênicos *in vitro*, incluindo vários Dermatófitos e *Histoplasma capsulatum*. A inibição de Dermatófitos tem sido atribuída à libertação de dióxido de carbono por parte de *C. albicans*, mas os efeitos podem também ser devido à produção de ácidos produzidos pelas Leveduras (Odds, 1988). Além do gênero *Candida*, espécies dos gêneros *Trichosporon* (Han, Choi e Sung, 2000) e *Malassezia* (Seebacher, Brasch e Abeck, 2007) são também capazes de provocar infecções unguiais.

No estudo realizado por Meireles, Rocha e Brilhante (2008), *C. albicans* foi a levedura mais isolada, seguida de *C. parapsilosis*, sendo esta última considerada como a levedura mais frequente nas onicomicoses das unhas dos pés (Gautret, Rodier e Kauffmann-Lacroix, 2000; Segal, Kimchi e Kritsman, 2000).

Em relação ao diagnóstico laboratorial, são muitas vezes consideradas como contaminantes em vez de agentes etiológicos das dermatomicoses (Gupta, Cooper e MacDonald, 2001).

2.8.1 - Patologias provocadas por Leveduras

As infecções provocadas por Leveduras encontram-se entre as infecções fúngicas humanas mais frequentes. As Leveduras pertencem a uma categoria de fungos cosmopolitas, muito difundidos na natureza e considerados como saprófitas inofensivos. Nas últimas décadas tem-se assistido a uma evolução notável da patologia fúngica, sendo hoje frequentes as leveduroses por qualquer espécie de *Candida*, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. No entanto, *C. albicans*, um comensal do tubo digestivo do Homem, dos mamíferos e das aves, continua a ser a espécie responsável por maior número de infecções humanas. Estas podem traduzir-se por afecções mucocutâneas ou por outras de localização profunda, tais como septicemias, endocardites, meningites e pentonites (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

As diferentes espécies de *Candida* estão envolvidas em várias infecções humanas, diferenciando-se umas das outras através da sua capacidade inerente para provocar doença. Em 1966, as espécies *C. albicans* e *Candida tropicalis* foram consideradas mais patogênicas que outras espécies quando comparados os seus efeitos em animais de laboratório, mantendo-se esta situação mesmo depois de experiências posteriores (Odds, 1988)

As espécies de *Candida* são patogénicas oportunistas que causam infecções invasivas locais ou sistémicas, em hospedeiros com as defesas afectadas. No entanto, as diferentes espécies de *Candida* variam em relação à sua capacidade para causar doenças invasivas, pois existem diferenças ao nível celular e molecular que conferem diferentes níveis de virulência. De salientar também, que vários aspectos poderão contribuir para as infecções provocadas pelo género *Candida*, designadamente: atenuação do sistema imunológico devido à idade, traumatismo da unha e consequente infecção da unha por Dermatófito que, posteriormente, poderá facilitar a infecção também por Leveduras (Summerbell, 1997).

As espécies de *Candida* conseguem aderir aos epitélios bucal, vaginal, cervical, corneal, urinário, gastrointestinal, entre outros (Odds, 1988) e a *C. albicans* é a espécie responsável por cerca de 50 – 90% das candidoses humanas, fazendo parte da flora comensal de mais de metade da população sã. A colonização dos tractos gastrintestinal e genito-urinário é considerada o foco de infecção mais importante das candidoses. Contudo, essa mesma colonização é benéfica para o hospedeiro, pois não só limita a sua posterior colonização por outros fungos patogénicos oportunistas, como também promove a resposta do sistema imunitário, protegendo o hospedeiro imunocompetente de possíveis infecções sistémicas (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990).

Na colonização gastrointestinal, *C. albicans* representa cerca de 50-60% de todas as espécies de *Candida*, seguida de *Candida glabrata*, *C. parapsilosis*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*. No tracto genito-urinário, a presença de Leveduras é mais frequente na mulher grávida, especialmente no último trimestre da gravidez, devido a concentrações modificadas de progesterona, de estradiol e de glicogénio e às variações de pH vaginal. A diabetes *mellitus* tem sido igualmente considerada como um factor favorecedor de candidose vaginal, assim como os antibióticos de largo espectro usados no tratamento de infecções bacterianas (Freitas, 2000).

O aumento da incidência das infecções fúngicas profundas em indivíduos imunocomprometidos, e muito especialmente da candidose, modificou completamente a noção primitiva de micoses profundas, consideradas como infecções devido a um número restrito de fungos patogénicos específicos e de distribuição geográfica bem delimitada. O poder patogénico de *Candida* sp. está particularmente bem estudado em *C. albicans*, permitindo-nos afirmar que a relação parasita-hospedeiro é dependente, não só dos factores extrínsecos e intrínsecos do hospedeiro, mas também dos factores de virulência do fungo, sendo de realçar as capacidades de aderência de formação de tubos germinativos e a produção de proteases (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990).

Candida albicans tem preferência por locais de infecção, nomeadamente as virilhas, pés, mãos e unhas das mãos (Korstanje e Staats, 1995). Em relação às candidoses das unhas, estas podem aparecer sob as formas de perioníquia e oníquia. A perioníquia caracteriza-se por uma inflamação, mais ou menos dolorosa, da pele periférica ungueal, que se apresenta vermelha e brilhante. Os factores predisponentes a esta infecção compreendem essencialmente o género, traumatismos diversos (manicure), actividade profissional e alterações hormonais. Assim, observa-se raramente no género masculino, sendo frequente em determinados profissionais, como pasteleiros, cozinheiros e trabalhadores de fábricas de conservas (Freitas, 2000).

O intertrigo interdigital localiza-se, preferencialmente, nas mãos e entre os dedos anelar e médio, embora possa aparecer noutras comissuras dos dedos. Está normalmente associado à profissão ou a ocupações em que há contacto frequente com a água. A lesão eritemo-escamosa, exsudativa e pruriginosa é, em regra, bem delimitada perifericamente e a epiderme apresenta-se descolada. Nos pés é observado menos frequentemente, podendo atingir um ou mais interstícios dos dedos (Freitas, 2000; Esteves, Cabrita e Nobre, 1990; Fischer e Cook, 1998).

2.9 - Fungos Filamentosos Não Dermatófitos

Outros FFND, denominados de fungos oportunistas que geralmente só causam lesões em indivíduos com sistema imunológico debilitado, são também agentes etiológicos de *Tinea pedis* e onicomíose. É o grupo mais diversificado, pois pode apresentar fungos conhecidos como contaminantes da pele, mas também do ambiente, como é o caso dos géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Phoma* (Gianni, Cerri e Crosti, 2000).

Fazem parte de um grupo heterogéneo, que tem o seu habitat em plantas e solos de todo o mundo e são considerados como fungos contaminantes, saprófitas e agentes oportunistas, tendo, nos últimos anos, aumentado a sua frequência entre as micoses ungueais (Ellis, Watson e Marley, 1997a, 1997b; Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000; Gianni, Cerri e Crosti, 2000; Escobar e Carmona-Fonseca, 2003; Gupta, Ryder e Summerbell, 2003).

Nos últimos anos, o aumento da detecção de casos de onicomíose causadas por FFND, particularmente *Fusarium* sp. mas também *Scopulariopsis brevicaulis* e *Aspergillus* sp., obriga a incluir estes fungos como possíveis agentes etiológicos destas doenças (Araújo, Souza e Bastos, 2003). O género *Alternaria* é também sugerido por Korstanje e Staats (1995) e os fungos *Scopulariopsis hialinum*, *Acremonium* sp., *Scytalidium* sp., *Onychocola canadensis* por English (1968), Greer (1995) e por Tosti, Piraccini e Lorenzi (2000).

Existem outros fungos não Dermatófitos que também podem parasitar a lâmina ungueal directamente, nomeadamente os géneros: *Curvularia* e *Hendersonula*. As espécies mais

frequentemente causadoras da onicomicose por FFND são *Fusarium solani* (*F. solani*) e *Fusarium oxysporum* (*F. oxysporum*), que produzem também outras doenças como dermatomicoses e infecções sistêmicas (Araújo, Souza e Bastos, 2003). Segundo Godoy, Nunes e Silva (2004) entre as espécies do gênero *Fusarium*, a espécie *F. oxysporum* é a mais frequentemente associada com a onicomicose.

A prevalência e a ecologia da onicomicose por estes fungos varia de acordo com a região geográfica. Tosti, Piraccini e Lorenzi (2000) na Itália, estabeleceram o diagnóstico da onicomicose em 431 entre 1.548 suspeitas de onicomicose e observaram FFND em 13,6% (n= 59), designadamente *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium* sp., *Acremonium* sp. e *Aspergillus* sp. Gupta, Jain e Lynde (2000), no Canadá, diagnosticaram onicomicose por FFND em 7,7% dos casos.

Num estudo realizado por Castro-López, Casas e Sopo (2008) a 137 indivíduos com onicomicose, além das espécies do gênero *Fusarium* já mencionadas, como *F. solani* e *F. oxysporum*, com as frequências de 64,9% e 32,8% respectivamente, isolou-se também a espécie *Fusarium verticillioides* com a frequência de 2,3%.

O gênero *Aspergillus* isola-se com certa frequência na onicomicose dos pés. Num estudo realizado em Barcelona, a espécie mais comum foi *Aspergillus versicolor*, com uma frequência de 5,8%. Outras espécies descritas, causadoras também de onicomicose, são: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus sydowii* e *Aspergillus unguis* (Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000). Noutro estudo realizado na Índia em 88 indivíduos com onicomicose, o gênero *Aspergillus* foi também o mais frequente, tendo a espécie *Aspergillus niger* sido a que apresentou maior expressão (Veer, Patwardhan e Damle, 2007). O mesmo se verificou num estudo realizado na Arábia Saudita em que o gênero *Aspergillus*, entre os FFND, foi também o mais frequente causador de onicomicose (Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi, 2008).

Tanto o gênero *Scytalidium* como o gênero *Fusarium* são capazes de metabolizar a queratina nas unhas, mas com intensidade menor que os Dermatófitos. Tal habilidade metabólica não é igual, no entanto, para todas as espécies do gênero *Scytalidium* (Araújo, Souza e Bastos, 2003). Num estudo realizado na Tailândia por Handog e Dayrit (2005), *Scytalidium dimidiatum* foi a espécie predominante no que concerne aos FFND.

A frequência de onicomicose por FFND varia de 4,5 a 39,6% nos diferentes estudos (Araújo, Souza e Bastos, 2003; Garg, Venkatesh e Singh, 2004; Gianni, Cerri e Crosti, 2000; Gupta, Jain e Lynde, 2000; Ramani, Srinivas e Ramani, 1993; Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000). Outros estudos constataam que a invasão das unhas por estes fungos é considerada invulgar

com prevalências que variam de 1,5% a 17,6% (Haneke, 1991; Kemna e Elewski, 1996; Shemer, Davidovici e Grunwald, 2009; Zaias, 1972). Esta variação nas prevalências pode reflectir diferenças geográficas na distribuição fúngica, diferenças nos critérios utilizados no diagnóstico de onicomicoses e, ainda, a utilização de métodos laboratoriais inapropriados para o crescimento fúngico (Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000).

Num estudo realizado por Gianni, Cerri e Crosti (2000) verificou-se incidência de 8% de FFND, eventualmente devido ao facto de vários elementos da amostra realizarem actividades relacionadas com a agricultura ou jardinagem, estando por esse motivo bastante expostos a grande diversidade de espécies fúngicas. Algumas destas espécies envolvidas em infecções, em que tem sido demonstrada dificuldade no tratamento, são as pertencentes ao género *Fusarium*.

Num estudo realizado por Araújo, Souza e Bastos (2003), constatou-se que os FFND foram responsáveis por 4,5% das onicomicoses diagnosticadas, tendo sido responsabilizados vários géneros fúngicos, nomeadamente: *Fusarium*, *Scytalidium*, *Curvularia* e *Chalaropsis*.

Noutro estudo micológico, levado a cabo por Tosti, Piraccini e Lorenzi (2000), que decorreu de 1995 a 1998, foram analisados 1.548 pacientes afectados por lesões nas unhas, tendo sido diagnosticados 59 casos de onicomicoses provocadas por FFND, constituindo 13,6% das onicomicoses diagnosticadas. Destes, 17 pacientes estavam infectados com *Scopulariopsis brevicaulis*, 26 com *Fusarium* sp. 9 com *Acremonium* sp. e 7 com *Aspergillus* sp.

Num estudo epidemiológico realizado na Tailândia que abrangeu 10.000 pacientes de dermatologia, verificou-se maior percentagem de isolamentos de FFND do que outros estudos realizados na Europa. Este estudo demonstrou que em mais de metade dos pacientes que apresentavam *Tinea pedis* e onicomicose foram identificados FFND. Ao contrário de outros estudos, em que foram isolados *Aspergillus* sp. e *Scopulariopsis brevicaulis*, apenas foram identificados *Scytalidium dimidiatum* e *Fusarium* sp. (Ungpakorn, 2005).

No estudo realizado por Surjushe, Kamath e Oberai (2007) em pacientes com HIV, os FFND foram os mais isolados, indicando-se como justificações aos resultados: a) susceptibilidade a fungos devido ao estado imunocomprometido dos pacientes em causa; b) factores ambientais que favorecem o crescimento de FFND; c) a ubiquidade das espécies fúngicas em causa e os estilos de vida que favorecem o trauma das unhas. Os mesmos autores concluem que os FFND são agentes etiológicos comuns da onicomicose, sendo necessário alterar a terapêutica de acordo com as espécies fúngicas envolvidas.

Uma das questões mais polémicas no diagnóstico da onicomicose consiste em identificar uma infecção ungueal causada por um fungo filamentoso de comportamento geralmente saprófita. Geralmente os fungos saprófitas, ao contrário dos Dermatófitos e das

espécies de *Scytalidium* isoladas em regiões tropicais (Summerbell, 1997), não são considerados patogénicos sempre que são isolados.

Muitos destes fungos são geralmente mais reconhecidos como contaminantes das unhas, à semelhança das Leveduras, do que como agentes etiológicos de tais infecções. Com o intuito de estabelecer um diagnóstico etiológico correcto, são estabelecidos critérios para o diagnóstico de infecção ungueal causada por fungos oportunistas, nomeadamente: a) demonstração de formas invasivas de elementos fúngicos no exame micológico directo compatíveis com o fungo isolado; b) e o isolamento do agente causal suspeito repetido sucessivamente em duas ou mais situações separadas, na ausência de Dermatófito ou de *Scytalidium* sp. (Gupta, Cooper e MacDonald, 2001). No entanto, efectivar o diagnóstico laboratorial considerando a alínea b) é bastante difícil, devido à não adesão dos pacientes para a realização de mais do que uma colheita em momentos diferentes (Gupta, Cooper e MacDonald, 2001).

Existem outras sugestões, realizadas por outros investigadores, para considerar estes fungos responsáveis pela infecção, designadamente: a) a inexistência de Dermatófitos na cultura; b) positividade no exame directo, apresentando a presença de filamentos fúngicos (hifas); e c) cinco exames culturais positivos de não Dermatófitos de vinte realizados. No entanto, este critério elimina a possibilidade de diagnóstico de infecções conjuntas na unha, em que mais do que uma espécie fúngica poderá ser causa de infecção. Esta situação requer técnicas diferentes para analisar a unha infectada, tendo em conta que existem cada vez mais evidências desta ocorrência (Greer, 1995; Nelson, Martins e Heffermast, 2004).

Antigamente, as infecções conjuntas eram incorrectamente diagnosticadas, pois existia a tendência generalizada de ignorar os FFND. No entanto, existem, mais recentemente, estudos que se debruçaram sobre a incidência de infecções conjuntas. Segundo Gupta, Cooper e MacDonald (2001) deverão ser consideradas infecções conjuntas sempre que se isolarem, numa ou mais ocasiões, Dermatófito e também o mesmo FFND.

Num estudo realizado por Piérard, Arrese e Pierre (1994) de 691 unhas infectadas, em 58% foi isolada apenas uma espécie fúngica e nos outros 42% foram isoladas mais do que uma espécie fúngica. A incidência de FFND na patogenicidade das onicomicoses, de acordo com estudos epidemiológicos realizados, é bastante variável, dependendo da metodologia utilizada e também com fluxos migratórios existentes nas diferentes populações abrangidas pelos estudos, sendo esta situação particularmente evidente em estudos europeus em que a incidência varia entre 1,5 e 6% (Ellis, Watson e Marley, 1997a, 1997b).

2.9.1 - Patologias provocadas por Fungos Filamentosos Não Dermatófitos

As dermatomicoses provocadas por FFND são raras, com excepção das onicomicoses, com oscilação entre 1 a 10%, dependendo dos autores e da proveniência da amostra (Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000). Num estudo realizado por Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi, (2008) os FFND foram os agentes mais frequentes das onicomicoses.

A maioria das infecções causadas por estes fungos ocorre principalmente nas unhas dos pés (Araújo, Souza e Bastos, 2003). No caso específico do género *Fusarium*, na unha do dedo maior do pé (Mallo-García, Coto-Segura e Santos-Juanes-Jiménez, 2008). Nos últimos anos, os casos de onicomicoses não dermatofíticas, que eram considerados raros, estão a aumentar rapidamente, sobretudo na Europa, onde são responsáveis por prevalências entre 1,5 e 6%, de acordo com os diferentes estudos (Ellis, Watson e Marley, 1997a, 1997b).

A forma clínica mais frequente da onicomicose por FFND é a proximal, associada à inflamação da dobra proximal, podendo ser limitada à região da lúnula ou afectar a totalidade da unha. A presença de inflamação sugere onicomicose por FFND, o que quase nunca é visto na onicomicose por Dermatófito. A onicomicose por *Acremonium* sp., por outro lado, não é associada a características clínicas peculiares, pois é frequente o envolvimento subungueal distal e lateral, indistinguível da onicomicose dermatofítica (Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000).

Apesar dos fungos Dermatófitos continuarem a ser os principais agentes etiológicos das onicomicoses, estudos científicos comprovam o aumento na prevalência de infecções causadas por FFND (Greer, 1995). Além disso, em situações em que ocorre infecção devido a estes agentes, pode ocorrer negligência no tratamento, servindo essa infecção como porta de entrada de outras micoses mais graves (Gianni, Cerri e Crosti, 2000). É importante referir que estes fungos não respondem aos antifúngicos, sendo por isso difíceis de erradicar (Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000).

2.10 - Resistência à patogenicidade fúngica

Os mecanismos precisos envolvidos na imunidade contra infecções por fungos são pouco conhecidos mas, em princípio, semelhantes aos observados na resistência às infecções bacterianas. A imunidade celular, mediada pelas células *T*, parece desempenhar um papel particularmente importante. As reacções de hipersensibilidade tardia a infecções por fungos são relativamente frequentes e também os pacientes com perturbações na resposta imunitária celular são mais susceptíveis a este tipo de infecções. As citocinas libertadas pelos linfócitos *T* activam os macrófagos, que têm um papel relevante na destruição dos fungos (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

Os neutrófilos estão também envolvidos nos mecanismos de defesa contra certas infecções respiratórias. A produção de proteínas catiónicas por estas células parece constituir um mecanismo eficaz contra as infecções por espécies do género *Mucor*. Também o óxido nítrico, produzido pelos neutrófilos, desempenha um papel importante no controlo de muitas micoses, como se observa, por exemplo, nas infecções por espécies do género *Cryptococcus* (Sousa, Franco e Rodrigues, 2001).

O processo de queratização, pelo qual a estrutura córnea da pele é constantemente renovada, pode apresentar uma barreira contra os microrganismos causadores da infecção. As células da epiderme, os queratinócitos, são responsáveis pelo seu contínuo crescimento. Estas células localizam-se na junção derme-epiderme e permitem a divisão celular contínua, que provoca a deslocação das células filhas para a superfície. Como as células crescem no sentido do exterior, perdem o seu núcleo e transformam-se em células queratinizadas. Este processo resulta não só na renovação contínua da estrutura córnea, mas também na remoção dos organismos aí presentes. Se um microrganismo não consegue crescer nas camadas mais profundas da pele, poderá ser removido por este mecanismo. Além disso, a inflamação aumenta a actividade epidérmica e, conseqüentemente, a renovação da estrutura córnea (Sohnle, citado por Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996).

Conforme verificado no estudo de Berk, Penneys e Weinstein (1976), quando se verifica uma dermatomicose, as células da epiderme dividem-se muito mais depressa do que numa pele normal. Factores imunológicos também podem enfatizar este processo, provocando um aumento na transferência das células da epiderme para a estrutura córnea.

A camada córnea possui a capacidade de, quando sofre alterações, levar ao aumento da descamação. Assim, depois de colonizar a camada córnea, o fungo ainda pode ser eliminado mecanicamente por meio de aceleração da velocidade de multiplicação dos queratinócitos, pois a sua presença provoca uma resposta inflamatória mediada por células. O aumento da descamação epidérmica pode ser resultado dessa tentativa de expulsão do fungo (Habif, 2005; Lacaz, Porto e Martins, 2002).

Quanto mais diferenciado for o fungo, maior será a sua resistência aos mecanismos de defesa do organismo parasitado e menor será a resposta inflamatória desencadeada na pele, levando a variações na sua apresentação clínica. Fungos adaptados ao parasitismo, como *T. rubrum*, são capazes de inibir a imunidade celular e a proliferação reaccional dos queratinócitos através de uma proteína lipofílica ligada às camadas da sua parede celular, evadindo-se dos mecanismos básicos de defesa dos hospedeiros. A permanência de fungos nos pés pode conduzir a quadros crónicos e recidivantes de micoses (Sadahiro, 1998).

CAPÍTULO II

Prevalência da infecção fúngica e disseminação fúngica

1 – Prevalência de *Tinea Pedis* e onicomicose

Desde 1980 que se tem verificado um aumento dramático na ocorrência de infecções fúngicas, principalmente devido ao aumento da população em risco. A síndrome de imunodeficiência adquirida (HIV) contribui bastante para este aumento, mas outros factores, como a utilização de imunodepressores em transplantados e em doentes oncológicos, têm também contribuído (Ellis, Marriott e Hajjeh, 2000).

As dermatomicoses afectam uma grande parte da população mundial e tiveram grande influência na saúde até metade do século vinte. A maior parte destas infecções podem aparecer como surtos epidémicos em populações, especialmente em crianças e adolescentes. Estas infecções não têm sido extensivamente estudadas, devido a incorrectamente terem sido consideradas mais um problema estético do que um problema de saúde (Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000).

No entanto, segundo um estudo realizado por Szepietowski, Reich e Paeon (2007), verificou-se que mais de metade dos pacientes com onicomicose apresentavam dor, sendo que 86% apresentavam dor quando cortavam as unhas e 82% não conseguiam calçar o que pretendiam. Além disso, a onicomicose é considerada como um problema importante para os que apresentam essa patologia, pois reduz o seu bem-estar físico, mental e social, contribuindo também para a sua estigmatização (Szepietowski e Reich, 2009).

Como as dermatomicoses não são doenças que requerem declaração, como outros tipos de micoses, pouco se sabe sobre a sua incidência e prevalência na população mundial. Além disso, a maior parte dos estudos realizados são em áreas muito específicas e por vezes em populações bastante limitadas. Se a distribuição e a frequência das dermatomicoses na população geral é desconhecida, o mesmo acontece com a onicomicose (Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000).

Um aspecto a realçar é o facto de a onicomicose ocorrer muito mais frequentemente nas unhas dos pés do que nas das mãos, como já foi referido, podendo ser devido a vários aspectos, nomeadamente ao facto de o crescimento da unha ser mais lento, facilitando a actividade patogénica da espécie fúngica envolvida, à maior frequência de má circulação também nos membros inferiores e o facto das unhas dos pés estarem mais sujeitas a traumatismo devido ao calçado e actividade física (Surjushe, Kamath e Oberai, 2007; Szepietowski e Salomon, 2007).

As infecções dos pés são particularmente problemáticas e afectam a pele (*Tinea pedis*) e unhas (*Tinea unguium* e onicomicose). Além disso, apesar da existência de novas drogas antifúngicas, as infecções das unhas são difíceis de erradicar, com situações de recorrência em 25 a 40% dos casos (Gonzalez, Ferrer e Buesa, 1999). Estas situações ocorrem, pois além de serem difíceis de tratar, porque o tratamento deverá ser acompanhado com a implementação de medidas de higiene corporal para evitar a recorrência, existe também a possibilidade de transmissão dos agentes etiológicos a outros indivíduos (Proceedings of the International Summit on Cutaneous Antifungal Therapy and Mycology Workshop, 1994).

As infecções das unhas e pele provocadas por Dermatófitos, como *Trichophyton*, têm vindo a tornar-se cada vez mais comuns. Em algumas partes do Mundo, a infecção por *Trichophyton* é agora considerada um grave problema de saúde pública (Woodfolk, 2005) e a *Tinea pedis* considerada como uma infecção bastante comum, afectando 1 em 5 pessoas (Male, 1990).

Num estudo realizado em Jaén, Espanha, por Padilla, Sampedro e Sampedro (2002), a *Tinea pedis* e a *Tinea unguium* ficaram ambas em terceiro lugar das dermatomicoses mais comuns, tendo *T. rubrum* apresentado a maior frequência de isolamento em ambas as patologias. Os Dermatófitos são os causadores de 90% das infecções fúngicas nas unhas ocorridas nos Estados Unidos da América e na Europa (Ellis, Watson e Marley, 1997a, 1997b). Estas ocorrem, geralmente, devido à existência prévia de infecções nos pés (*Tinea pedis*) e consequente coçar ou limpeza (Summerbell, 1997).

Segundo os resultados de um estudo realizado em vinte países europeus em 2003, denominado *Achilles Project*, em que todos os doentes de dermatologia foram convidados a participar, 34,9% de 70.497 sujeitos tinham infecções fúngicas nos pés, sendo a *Tinea pedis* e a onicomicose as mais comuns. De salientar que, quando se realizam estudos em que é necessário os elementos da amostra realizarem um auto-diagnóstico, se apresenta baixa prevalência de onicomicose (<3%), enquanto que quando são realizados diagnósticos clínicos a prevalência é elevada (entre 6,86 e 34,9%) (Bursykowski, Molenberghs e Abeck, 2003;

Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000; Gupta, Sibbald e Lynde, 1997; Heikkilä e Stubb, 1995), revelando a incapacidade de auto-diagnóstico por parte dos indivíduos.

A onicomicose afecta cerca de 2,8% (Arenas-Guzmán, 2002) a 5% da população mundial (Murray e Dawber, 2002). Num estudo realizado na Ásia, durante a década de 1990, verificou-se que a prevalência da onicomicose era inferior nos países tropicais (3,8%) do que nos países sub-tropicais e nos países com temperaturas mais amenas (18%) (Bramono, 2001).

Heikkilä e Stubb (1995) com o objectivo de calcularem a prevalência de onicomicose na Finlândia, examinaram 800 pessoas para a pesquisa de onicomicose tendo constatado prevalência de 13% nos homens, 4,3% nas mulheres e 8,4% na população em geral, incluindo crianças. Com um método similar, Seebacher (1968) também examinou 800 pessoas para pesquisa de onicomicose, tendo verificado que 105 (13,1%) sujeitos apresentaram onicomicose provocada por Dermatófitos.

Em 1997, Gupta, Sibbald e Lynde, no Canadá, realizaram um estudo aplicado a 2.001 pacientes de consulta de dermatologia e verificaram que a prevalência de onicomicose foi de 9,1%. Segundo Arenas-Guzmán (2002), esta patologia constitui cerca de 50% das onicopatias e na Europa apresentam prevalência de 26,9%.

Na Dinamarca, num estudo também realizado para obtenção da prevalência de onicomicose, verificou-se que 238 indivíduos numa amostra de 5.755, em que todos apresentavam idade superior a 18 anos, apresentavam onicomicose, resultando numa prevalência de 4,14% (Svejgaard e Nilsson, 2004). Noutro estudo, este realizado na Alemanha, em 2000, denominado *Foot Check Study*, demonstrou-se que a prevalência de onicomicose era de 12,4%, enquanto que 31,6% dos participantes no estudo tinham *Tinea pedis* e/ou onicomicose (Abeck, Haneke e Nolting, 2000).

Apesar das infecções dos pés serem mais comuns em adultos do que em crianças, os Dermatófitos podem também estar presentes nos pés das crianças. Por exemplo, Dermatófitos foram isolados de pés de 21% de crianças mexicanas com idades entre os 2 e os 12 anos que apresentavam escamação plantar ou interdigital, maceração e prurido (Becerril-Chihu, Bazan-Mora e Lopez-Martinez, 1999). Apesar disso, a prevalência em crianças de onicomicose e de *Tinea pedis*, comparativamente com adultos, é significativamente reduzida no Canadá e nos Estados Unidos (0,16%) (Gupta, Sibbald e Lynde, 1997).

Num estudo realizado nas Filipinas por Handog e Dayrit (2005), verificou-se que as infecções fúngicas são a segunda maior causa de procura das clínicas de dermatologia, apresentando prevalência de 12,98%. Entre as infecções fúngicas, a *Tinea pedis* apresenta prevalência de 16,38%, justificando-se a situação devido ao facto de durante o período de maior

pluviosidade ser comum a humidade contínua nos pés. As condições climatéricas poderão contribuir para a sudação excessiva e permanente dos pés, contribuindo desta forma para o aumento da incidência das duas patologias nos meses da Primavera e Verão (Ungpakorn, 2005; Williams, 1993). Na Índia, a onicomicose constitui 50% dos casos de infecções nas unhas (Madhuri, 2002) e, num estudo realizado na Arábia Saudita, a *Tinea pedis* foi também a dermatomicose mais comum (juntamente com *Tinea capitis*) (Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi, 2008). Em Hong Kong, num estudo aplicado a 9.332 adultos, a prevalência de onicomicose foi de 7,9% (Cheng e Chong, 2002)

Verificou-se, num estudo realizado por Foulet, Cremer e Bourdon-Lanoy (2004), que 75,1% de indivíduos com onicomicose apresentam também infecção plantar do pé e 66,6% infecção interdigital. Noutros estudos realizados também se verificou a presença de ambas as patologias nos pés (Szepietowski, 2004a; Cheng e Chong, 2002; Szepietowski, Reich e Garlowska, 2006; Ungpakorn, Lohaprathan e Reangchainam, 2004). Esta situação deve-se ao facto de a infecção plantar favorecer o aparecimento de onicomicose, através da migração da espécie fúngica, devido à proximidade da pele com a unha (Duhard, 2003).

Estudos epidemiológicos evidenciaram prevalências elevadas de *Tinea pedis* em atletas, nadadores, maratonistas e judocas. Admite-se que a prevalência elevada nos atletas está relacionada com situações específicas de treino, dado que a prevalência e a predominância das espécies causadoras de infecção diferem nos desportos praticados e também com o estilo de vida (Kamihama, Kimura e Hosokawa, 1997).

Segundo Kaur, Kashyap e Bhalla (2007), a prevalência de onicomicose e *Tinea pedis* está a aumentar à escala global. Vários factores contribuem para este aumento, sendo os três principais: o envelhecimento da população, que propicia o aparecimento de outras doenças que potenciam o aparecimento de onicomicose como, por exemplo, diabetes e má circulação sanguínea ao nível dos membros inferiores; o aumento de pessoas imunocomprometidas que, como já foi referido, ocorre devido a patologias específicas e ainda a utilização de tratamentos que provocam esse estado; o aumento da prática de actividade física, recorrendo à utilização de *health clubs*, piscinas e de calçado oclusivo (*Proceedings of the International Summit on Cutaneous Antifungal Therapy and Mycology Workshop*, 1994; Cheng e Chong, 2002;). Além destes aspectos, numa percentagem pequena de pessoas, ambas as patologias podem ocorrer devido a um defeito genético que provoca alterações na função imunológica (Odom, 1994).

2 – Características fúngicas que influenciam a sua disseminação

Os fungos são os microrganismos mais disseminados num edifício com problemas de infiltrações e humidade, pois requerem menos humidade do que as bactérias para proliferarem. Enquanto que para os fungos é apenas necessário humidade relativa entre 75 e 85% para crescerem, as bactérias necessitam de humidades relativas mais elevadas (95%) e a presença abundante de água (Singh, 2001). No entanto, a disseminação de estruturas fúngicas viáveis e de esporos está muito dependente das suas dimensões (Aydogdu, Asan e Otkun, 2005), das suas características biológicas (Gomes, 2002; Lugauskas e Krikstaponis, 2004), da temperatura do ar, disponibilidade de oxigénio, presença de nutrientes e da textura (Becker, 1994) e ainda das vibrações das superfícies em que se encontram (Górny, Reponen e Grinshpun, 2001).

Os fungos libertam os seus esporos devido a correntes de ar ou devido a reacções provocadas em situações desfavoráveis como, por exemplo, o rápido aumento ou decréscimo na humidade relativa, ou ainda para alcançar novas fontes de nutrientes. Alguns esporos têm uma parede rija e mantêm-se agregados através de muco, formando corpos pesados, não sendo, por esse motivo, facilmente transportados pelo ar, como é o caso dos fungos dos géneros *Acremonium* e *Exophiala*. Por outro lado, géneros como *Penicillium* e *Cladosporium* têm esporos com paredes secas, fáceis de dissociar e leves, sendo por isso mais fáceis de dispersar no ar (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

No caso específico do género *Cladosporium*, o tamanho dos esporos contribui também para a sua dispersão, sendo por isso muito frequente no ar (Sabariego Ruiz, De La Guardia Guerrero e Alba Sánchez, 2004) e também em superfícies húmidas (Grant, Hunter e Flannigan, 1989). No entanto, os esporos do mesmo género apresentam-se em pequenas cadeias, enquanto que os esporos dos géneros *Aspergillus* e *Penicillium* são mais separados (Hindy e Awad, 2000).

Assim, é possível separar os esporos em dois diferentes grupos: os esporos molhados como, por exemplo, os dos géneros *Stachybotrys*, *Acremonium* e *Trichoderma* e os esporos secos dos géneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Cladosporium*. Os esporos secos podem existir em grandes quantidades que se disseminam no ar e são facilmente inalados, enquanto que os esporos molhados, produzidos na forma de uma massa gelatinosa, não são facilmente disseminados no ar. Esta característica dos esporos não está relacionada com os requisitos inerentes ao consumo de água da espécie fúngica, mas com uma característica intrínseca da mesma (Duchaine e Mériaux, 2001).

Os esporos molhados são frequentemente associados a colónias visíveis existentes em paredes e superfícies. Em situações em que é necessário averiguar a razão das queixas numa casa, justifica-se apenas realizar colheitas de superfícies, pois os fungos patogénicos e toxigénicos mais importantes (como, por exemplo, *Stachybotrys chartarum*) podem ser encontrados mais facilmente em paredes e superfícies do que no ar (Duchaine e Mériaux, 2001). Em vários estudos, esporos do género *Stachybotrys* não foram identificados através da realização de colheitas de ar, mas foram isolados em colheitas de superfícies realizadas no mesmo espaço (Cooley, Wong e Jumper, 1998).

Aspergillus fumigatus, por necessitar de maiores quantidades de água do que outras espécies do mesmo género como, por exemplo, *Aspergillus versicolor*, é mais provável que se mantenha em superfícies húmidas do que disseminado no ar (Duchaine e Mériaux, 2001). Além da espécie *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* foram também detectadas em água hospitalar, não se verificando diferenças, em relação à sua frequência, na água quente e fria (Borrego, Carvalho e Miranda, 2009). Quando os esporos do género *Aspergillus* são disseminados, os mesmos mantêm-se no ar durante bastante tempo podendo contaminar todas as superfícies com que entram em contacto (Bex, Mouilleseaux e Causse, 2000; Van den Bergh, Verweij e Voss, 1999). Esta situação deve-se ao facto dos seus esporos serem muito leves, resistentes à dissecação e facilmente dispersos (Rodrigues e Araújo, 2007), podendo a inalação ocorrer directamente ou através de colonização nasofaríngea intermédia (Van den Bergh, Verweij e Voss, 1999).

No caso do género *Alternaria*, pelo facto de não produzir muitos esporos, quando comparado com os géneros *Aspergillus* e *Penicillium*, não é encontrado tão frequentemente no ar como nas superfícies (Duchaine e Mériaux, 2001).

Várias espécies fúngicas, especialmente as pertencentes aos géneros *Cladosporium* e *Aspergillus*, podem ser disseminadas através de partículas. Enquanto as espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são geralmente isoladas em ambientes interiores e aparecem, na maior parte das vezes, provenientes de fontes internas, as espécies do género *Cladosporium* provêm essencialmente do ambiente exterior (Sarica, Asa e Otkun, 2002). O género *Acremonium* raramente é encontrado no ar, sendo mais frequentemente isolado em superfícies de vários objectos (Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003).

As espécies fúngicas colonizam os materiais quando os seus esporos germinam e as hifas e micélios desenvolvem-se sobre ou no interior desses materiais. Este crescimento geralmente culmina com a produção massiva de esporos. A produção e a libertação de esporos varia drasticamente com as espécies fúngicas, influenciando a sua disseminação no ar e/ou nas

superfícies (Horner, 2003). Esporos de *Aspergillus* e de *Penicillium* podem permanecer durante longos períodos, ou mesmo anos, em espaços interiores, enquanto que o género *Stachybotrys* diminui rapidamente a sua concentração, o que condiciona a interpretação dos resultados obtidos de colheitas de ar utilizando meios de cultura (Flannigan e Miller, 1994).

A dispersão de esporos fúngicos depende assim de diversos aspectos, como é o caso de algumas das suas características como, por exemplo, tamanho, rugosidade, densidade, carga eléctrica, estrutura da colónia, mas também de variáveis ambientais; é o caso das vibrações, velocidade do ar, temperatura, humidade relativa e natureza do substrato onde as espécies se encontram (Górny, 2004; Górny, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008; Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

3 – Variáveis ambientais que influenciam a disseminação fúngica

A contaminação fúngica dos ambientes interiores poderá influenciar a infecção fúngica dos seus ocupantes, estando a mesma dependente de várias variáveis ambientais, nomeadamente: os aspectos construtivos, o sistema de ventilação e/ou ar condicionado e a sua operação, as condições do ambiente exterior, o número de ocupantes no espaço interior, bem como as actividades desenvolvidas (Wang, Chen e Zhang, 2001).

Microrganismos, como os fungos, podem ser encontrados sempre que existem condições ideais de temperatura, humidade relativa, oxigénio, fontes de carbono e nitrogénio e de minerais que precisam. As suas actividades biológicas de biodegradação e biodeterioração dependem das suas actividades enzimáticas, das condições ambientais, do fenómeno de competição e da natureza do substrato. No caso específico da distribuição fúngica no exterior, esta está também muito condicionada com as condições meteorológicas (Halwagy, 1989; Jones e Harrison, 2004).

As variáveis ambientais que influenciam a contaminação fúngica em ambientes interiores são bastante diversas, nomeadamente: temperatura, humidade relativa e velocidade do ar (Aydogdu, Asan e Otkun, 2005; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Nevalainen, Willeke e Liebhaber, 1993; Pastuszka, Paw e Lis, 2000), estação do ano (Aydogdu, Asan e Otkun, 2005; Shelton, Kirkland e Flanders, 2002), actividades realizadas nos espaços (Buttner e Stetzenbach, 1993; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956; Hunter, Grant e Flannigan, 1988; Jersek e Zorman, 2006; Kim, Park e Jang, 2007; Otten e Burge, 1999; Pastuszka, Paw e Lis, 2000), número de frequentadores dos espaços (Wergikoski, 2004;

Buttner e Stetzenbach, 1993; Codina, Fox e Lockey, 2008; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956; Ekhaise, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000) e condições de higiene (Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003).

O facto de não existirem ambientes livres de espécies fúngicas deve-se ao facto de estes microrganismos conseguirem sobreviver em situações extremas como, por exemplo, temperaturas que variam entre os - 5 e os 60 Grau Celsius (°C), com pH baixo (pH 1) ou alto (pH 9) e com baixas concentrações de oxigénio, apesar de cada espécie possuir condições específicas ideais para o seu desenvolvimento (Chão, Schwartz e Milton, 2002). Para a maior parte das espécies fúngicas, a temperatura de desenvolvimento situa-se entre os 20 e 24°C e não crescem acima dos 29°C (Çolakoglu, 2001). Em relação à humidade relativa, necessitam de pelo menos 50%, mas geralmente necessitam de mais de 65% (Gallo, 1985).

Estudos realizados sobre a disseminação fúngica em ambientes interiores evidenciam a presença de elevados níveis de humidade relativa, sendo, por isso, difícil de dissociar os efeitos da humidade relativa elevada da existência de fungos. Assim, de acordo com Arundel, Sterling e Biggin (1986), a maior parte das espécies fúngicas necessita de níveis de humidade relativa superiores a 75% para crescerem, justificando, por esse motivo, o seu desenvolvimento em cozinhas e instalações sanitárias. A humidade relativa elevada em ambientes interiores pode resultar de infiltrações que ocorrem nos edifícios, sendo muitas vezes a contaminação fúngica das casas um problema bastante frequente, como é evidenciado nos estudos de Brunekreef (1992), Garrett, Rayment e Hooper (1998), Hutter, Moshammer e Kundi (2002), Kilpeläinen, Tehro e Helenius (2001), Koskinen, Husman e Meklin (1999), Lawton, Dales e White (1998), Lugauskas e Jaskelevicius (2007), Norbäck, Björnsson e Janson (1995), Roussel, Reboux e Bellanger (2008), Smith, Anderson e Lewi (1992), Williamson, Martin e McGill (1997) e Stevens (2004) (Garrett, Rayment e Hooper, 1998). Por este motivo, a United States Environmental Protection Agency (EPA), a American Conference of Government Industrial Hygienists (ACGIH) e a International Technical Society Organized to Advance the Arts and Sciences of Heating, Ventilation, Air-conditioning and Refrigeration – Standard 55-1992 (ASHRAE, 1992), sugerem para ambientes interiores valores de humidade relativa inferiores a 60%, de modo a evitar a proliferação fúngica (Environmental Protection Agency, 2001; ASHRAE, 1992; Sterling, Arundel e Sterling, 1985).

A intensidade do desenvolvimento fúngico depende da humidade relativa (Oreszczyn, Ridley e Hong, 2006) e, se esta apresentar valores no intervalo dos preferenciais para as

espécies fúngicas, estas irão proliferar e contribuir para a contaminação dos ambientes interiores, incluindo ar e superfícies (Buttner e Stetzenbach, 1993; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956; Lugauskas e Krikstaponis, 2004). Para confirmar esta situação, Chang, Foarde e Van Osdell (1995) verificaram que a manutenção de valores baixos de humidade relativa é efectiva no controlo da contaminação fúngica.

Relativamente à temperatura, outra variável ambiental que, como já foi referido, também influencia a disseminação fúngica, num estudo desenvolvido por Kakde, Kakde e Saoji (2001) verificaram-se picos de esporos fúngicos no ar exterior com temperaturas entre os 22°C e os 27°C e com humidade relativa entre 75 e 80% e menores quantidades de esporos fúngicos com temperaturas entre os 43 e os 48°C e humidade relativa entre 25 e 40%. Num estudo realizado por Sabariego Ruiz, De La Guardia Guerrero e Alba Sánchez (2004) verificou-se, para os géneros *Alternaria* e *Cladosporium*, influência da temperatura máxima, média e mínima e, ainda, o número de horas do sol. Jazrawi e Al-Shahwani (1983) referem também que a concentração de microrganismos no ar é directamente proporcional com a temperatura atmosférica. Num estudo realizado por Adeeb e Shooter (2003) em matadouros na Austrália, verificou-se o aumento da contaminação fúngica do ar no Verão com picos a ocorrerem em Maio e Junho. Noutro estudo realizado na Índia, verificaram-se menores quantidades de esporos fúngicos no Verão e maiores durante a estação de chuvas com temperaturas moderadas (23,3 – 33,2°C) e elevada humidade relativa (80,5 – 88,6%) (Majumdar e Bhattacharyya, 2004).

No que concerne à velocidade do ar, de acordo com Al-Subai (2002), esta é proporcional ao aumento de esporos fúngicos no ar interior e exterior, pois contribui para a disseminação dos esporos e consequentemente para a contaminação fúngica dos espaços interiores. Foarde, Van Osdell e Menetrez (1999) também verificaram que a contaminação fúngica interior está directamente relacionada com a velocidade do ar. No caso do ambiente exterior, deverão também ser consideradas outras características como, por exemplo, a estação do ano e ainda outras particularidades inerentes à localização, como é o caso da flora circundante, actividades desenvolvidas, poluição atmosférica e densidade urbana (Rosas, Calderón e Ulloa, 1993).

As variáveis ambientais, como os componentes dos sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado, imprescindíveis em ginásios com piscinas, funcionam como reservatórios de microrganismos, entre eles, os fungos. A diversidade de microrganismos que podem existir nestes sistemas depende da riqueza microbiológica existente no ar bem como, entre outros factores, dos próprios utentes e trabalhadores que transportam no corpo (flora comensal) ou vestuário, várias espécies fúngicas (Gomes, 2002; Wergikoski, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000).

Os frequentadores dos espaços interiores são fontes adicionais de fungos, pois o respectivo movimento causa correntes de ar disseminando os microrganismos que transportam pelo ar e que, mais tarde, se depositam nas superfícies e objectos (Lugauskas e Krikstaponis, 2004). Segundo vários estudos realizados, a actividade dos frequentadores de um espaço é uma das principais causas de bioaerossóis em ambiente interior (Buttner e Stetzenbach, 1993; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956; Ottene e Burge, 1999; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Solomon, Burge e Boise, 1980).

Os sistemas de ar condicionado, apesar de poderem reduzir até 50% os esporos fúngicos ou mesmo eliminá-los no ar interior (Barnes e Rogers, 1989; Buttner e Stetzenbach, 1993; Cornet, Levy e Fleury, 1999; Curtis, Ross e Persky, 2000; Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau, 2002; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956; Kemp, Neumeister-Kemp e Esposito, 2003; Kodama e McGee, 1986; Oren, Haddad e Finkelstein, 2001; Parat, Perdrix e Fricker-Hidalgo, 1997; Solomon, Burge e Boise, 1980; Van den Bergh, Verweij e Voss, 1999), podem também funcionar como reservatórios e veículos de disseminação para algumas espécies (Pejtersen, 1996; Beggs e Kerr, 2000). Além disso, estes sistemas potenciam a criação de superfícies frias que promovem a condensação, devido à evaporação lenta e que, quando em excesso, podem aumentar a humidade relativa do ambiente interior e consequentemente criar condições para a proliferação fúngica (Horner, 2003; Wang, Chen e Zhang, 2001).

A falta de ventilação dos espaços interiores é também considerada como factor de risco para a contaminação fúngica (Roussel, Reboux e Bellanger, 2008). No entanto, essa mesma ventilação pode ter um efeito positivo quando a corrente de ar criada inibe o crescimento das espécies fúngicas, impedindo a sua sedimentação nas superfícies devido à destruição mecânica de micélios e, ainda, um efeito negativo quando o aumento de ventilação facilita a disseminação das espécies fúngicas nesses espaços (Lugauskas e Krikstaponis, 2004).

Além da problemática inerente à ventilação, segundo Buttner e Stetzenbach (1993), o tipo de actividades realizadas nos espaços, como o simples andar, também influencia a respectiva concentração fúngica. Segundo Green, Tovey e Sercombe (2006), a exposição a esporos e fragmentos fúngicos depende das perturbações que ocorrem ao nível do solo que provocam a sua elevação até ao nível das vias respiratórias. Mitakakis, Tovey e Xuan (2000) demonstraram também que a presença de esporos dos géneros *Alternaria* e *Cladosporium* é superior durante períodos de actividade intensa.

Outro aspecto que também pode contribuir para o desenvolvimento fúngico em ambientes interiores é o dos materiais de construção como a madeira, placas de estuque,

celulose, papel de parede e têxteis, especialmente fibras naturais que propiciam a colonização fúngica (Andersen e Nissen, 2000; Chão, Schwartz e Milton, 2002; Gravesen, Nielsen e Iversen, 1999; Lugauskas e Jaskelevicius, 2007; Piteira, 2007). Os níveis fúngicos são também maiores quando existem alcatifas (Roussel, Reboux e Bellanger, 2008), mas menores quando existem operações de aspiração frequentes a essas alcatifas (Chew, Rogers e Burge, 2003; Garret, Rayment e Hooper, 1998; Stevens, 2004). Outros aspectos a considerar, também potenciadores da proliferação fúngica, são: a localização da habitação em piso térreo e ainda a habitação ser pequena e ter muitos ocupantes (Roussel, Reboux e Bellanger, 2008; Scheff, Paulius e Curtis, 2000). A localização em caves húmidas sem circulação de ar (Rahjhans, 1989) e ainda a intensidade das actividades realizadas (Buttner e Stetzenbach, 1993) podem também contribuir para a contaminação fúngica em ambientes interiores.

As características das habitações que conduzem a baixas concentrações de bioaerossóis fúngicos são várias, designadamente: baixa humidade relativa nas caves e nos pisos térreos e isolamento eficaz desses locais, grande utilização de sistemas centralizados de ar condicionado e filtros de alta eficiência instalados no sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC) (Gomes, 2002).

No estudo realizado por Ozkutuk, Ceylan e Ergor (2008) verificou-se associação significativa entre a idade do edifício e a presença de algumas espécies fúngicas como, por exemplo, as pertencentes ao género *Aspergillus*. Além desta variável, foram também analisadas outras, tendo-se verificado menor crescimento fúngico em pavimentos de pedra ou mármore do que em pavimentos de madeira, crescimento significativo do género *Mucor* quando existiam flores em vasos e do género *Penicillium* quando existiam pássaros.

As características fúngicas e as variáveis ambientais, aliadas a factores intrínsecos e extrínsecos do hospedeiro poderão potenciar a infecção fúngica (Seebacher, Bouchara e Mignon, 2008; Gomes, 2002; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Williams, 1993; Sigurgeirsson e Steingrimsson, 2004; Wang, Chen e Zhang, 2001; Woodfolk, 2005).

4 – Factores intrínsecos que influenciam a infecção fúngica

O estilo de vida e o comportamento são factores que afectam a incidência da infecção por *Tinea pedis*. Num estudo aplicado a atletas verificou-se uma maior prevalência em homens do que em mulheres, concluindo-se que os homens apresentam um maior risco, podendo

eventualmente ser devido às actividades desportivas praticadas e aos procedimentos de higiene corporal (Kamihama, Kimura e Hosokawa, 1997).

Vários estudos evidenciam maior frequência de *Tinea pedis* e *Tinea unguium* e/ou onicomicose nos homens do que nas mulheres, designadamente os desenvolvidos por Perea, Ramos e Garau (2000), Piérard (2001), Padilla, Sampedro e Sampedro (2002), Garg, Venkatesh e Singh (2004), Szepietowski, Reich e Garlowska (2006) e Bassiri-Jahromi e Khaksari (2009). No caso da onicomicose verifica-se o mesmo através de estudos realizados por Heikkilä e Stubb (1995), Gupta, Cooper e MacDonald (2001), Del Palácio, Pazos e Cuétaras (2001), Kazemi (2007) e Veer, Patwardhan e Damle (2007), sendo por isso também de consenso geral que é mais frequente em homens do que em mulheres (Nelson, Martins e Heffermast, 2004).

Um aumento das infecções dermatófitas em homens também foi evidenciado num estudo realizado na América do Norte, na Venezuela e em sujeitos diabéticos no Canadá (Escalante, Sánchez-Borges e Capriles-Hulett, 2000; Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000; Gonzalez, Ferrer e Buesa, 1999). A justificação apontada para a maior frequência em homens do que em mulheres foi o facto de os homens realizarem mais actividade desportiva (Heikkilä e Stubb, 1995), estarem mais sujeitos a traumas nas unhas e nos pés e utilizarem mais frequentemente sapatos que potenciam a oclusão do pé (Garg, Venkatesh e Singh, 2004). Contudo, noutros estudos, realizados por Sais, Jucglà e Peyrí (1995) e por Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi (2008), os resultados foram opostos, justificando-se os mesmos pelo facto de as mulheres utilizarem sapatos que favorecem o traumatismo das unhas.

Segundo Sigurgeirsson e Steingrimsson (2004), é mais provável os indivíduos com asma, urticária, angiodema e problemas reumatológicos apresentarem onicomicose. Além disso, estudos em populações específicas demonstraram uma prevalência maior em idosos, diabéticos, nadadores, psoríasicos e em doentes com o sistema imunitário comprometido. Segundo Handog e Dayrit (2005), deverá também ser considerada a obesidade como factor de predisposição não só para a onicomicose, mas também para a *Tinea pedis*. No caso específico dos psoríasicos, num estudo realizado por Gupta, Lynde e Jain (1997) verificou-se elevada prevalência de onicomicose (13%), apesar de no estudo desenvolvido por Hamnerius, Berglund e Faergemann (2004) não se terem verificado prevalências superiores de *Tinea pedis* e onicomicose nos psoríasicos quando comparadas com a população controlo.

No caso específico dos diabéticos, estes apresentam prevalência de onicomicose de 31,5% (Arenas-Guzmán, Ruvalcaba-Priego e Leyva-Santiago, 1999; Bouguerra, Essais e Sebaï, 2004; García-Humbria, Richard-Yegres e Pérez-Blanco, 2005). No estudo realizado por Foss, Polon e Takada (2005) em diabéticos tipo I e tipo II verificaram-se prevalências de onicomicose

e *Tinea pedis* de 42,6% e 29,2%, respectivamente. Actualmente, é aceite que um indivíduo diabético multiplica o risco relativo de apresentar onicomicose (de 1,5 a 2,8 vezes, comparado com um indivíduo não diabético) e de apresentar micose interdigital (2,1 vezes) (El Fekih, Hicheri e Khelifi, 2004). Esta situação deve-se ao facto de a penetração dos esporos fúngicos na epiderme depender da integridade dessa barreira e também da defesa contra a infecção, ambas comprometidas na pele do diabético (Foss, Polon e Takada, 2005).

Em relação ao envelhecimento, este poderá potenciar as infecções fúngicas, pois as alterações imunológicas que ocorrem com o envelhecimento tornam as pessoas mais susceptíveis à doença. Alguns estudos relacionam o aumento da prevalência da infecção fúngica com um aumento da idade (Piérard, 2001; Roberts, 1992; Williams, 1993; Elewski e Charif, 1997; Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000; Gupta, Sibbald e Lynde, 1997; Handog e Dayrit, 2005; Heikkilä e Stubb, 1995; Nelson, Martins e Heffermast, 2004; Sais, Jucglà e Peyrí, 1995; Singh, Patel e Rogers, 2003). Esta situação pode também dever-se ao facto dos pacientes mais jovens recorrerem a tratamento numa fase mais precoce da doença ao contrário dos doentes com mais de 55 anos (Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000).

Os problemas de circulação sanguínea nos membros inferiores deverão também ser considerados, pois afectam, diminuindo, o crescimento das unhas, potenciando a onicomicose (Haneke, 1989). As infecções fúngicas das unhas também são mais frequentes em doentes imunocomprometidos como, por exemplo, em doentes com Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e diabetes (Williams, 1993; Faergemann e Baran, 2003; Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000; Gupta, Konnikov e MacDonald, 1998; Handog e Dayrit, 2005; Mirmirani, Hessol e Maurer, 2000).

Os factores genéticos desempenham um papel importante na susceptibilidade à onicomicose. Num estudo desenvolvido por Sigurgeirsson e Steingrimsson (2004) foi encontrado um risco crescente em indivíduos cujos pais ou filhos tinham tido onicomicose, mas não foi encontrado o mesmo risco em indivíduos que partilhavam a mesma habitação e que não eram familiares. O risco também aumentou quando um dos elementos do casal apresentava onicomicose.

Assim, em adição aos efeitos do envelhecimento, a susceptibilidade genética tem sido proposta como potenciadora da infecção. Apesar de a infecção por *T. rubrum* ter vindo a ser reportada como demonstrando alguma afinidade genética, estudos epidemiológicos mais recentes desafiam esta teoria (Seebacher, 2003; Summerbell, 1997; Zaías, Tosti e Rebell, 1996).

5 – Factores extrínsecos não profissionais que influenciam a infecção fúngica

A existência de animais domésticos poderá potenciar a infecção, pois muitos deles, como os gatos, cães, roedores e pássaros, poderão funcionar como vectores de doença, contribuindo para a disseminação das espécies fúngicas em casas (Roussel, Reboux e Bellanger, 2008). Verificou-se, num estudo realizado em Melbourne, que a presença de animais domésticos, como cães e gatos, influenciavam, aumentando, a quantidade de esporos fúngicos (Dharmage, Bailey and Raven, 1999), apesar de no estudo realizado por Castro-López, Casas e Spo (2008) não se ter verificado associação estatisticamente significativa entre a existência de animais domésticos e a onicomicose.

As dermatomicoses são as doenças de pele mais frequentes nos animais de estimação (Chermette, Ferreira e Guillot, 2008; Manciatì, Nardoni e Corazza, 2003), justificando a transferência da infecção dos animais para o Homem que ocorre predominantemente através de contacto directo, pois fragmentos de pele e pêlo provenientes de lesões poderão conter esporos capazes de iniciar infecção em pele humana (Pier, Smith e Alexiou, 1994).

Outros factores que têm vindo a ser implicados são os associados com os “estilos de vida moderna”, incluindo a utilização de calçado com materiais sintéticos e a exposição a fungos em ambientes que propiciam o desenvolvimento fúngico, como ginásios e piscinas. Apesar da identificação dos múltiplos factores que contribuem para o desenvolvimento fúngico, ainda não existe um consenso sobre um único mecanismo que explique a crescente incidência de infecções nos pés devido a fungos (Woodfolk, 2005).

O nível de educação poderá também condicionar a prevalência da *Tinea pedis* e da onicomicose, tendo-se constatado associação num estudo realizado por Szepletowski, Reich e Garlowska (2006), em que se verificou que os indivíduos com mais instrução apresentavam menor prevalência de ambas as patologias. Os autores justificaram esta situação devido ao facto de baixa instrução poder conduzir a condições de trabalho mais precárias.

6 – Factores extrínsecos profissionais que influenciam a infecção fúngica

Algumas actividades profissionais são caracterizadas por apresentarem um maior risco de infecção (Williams, 1993; Seebacher, Bouchara e Mignon, 2008). Num estudo realizado a mineiros, Gotz e Hantschke (1965) concluíram que a utilização de chuveiros colectivos seria a causa da elevada distribuição de *Tinea pedis* nesse grupo profissional. Foi possível também

verificar que o risco de infecção aumentava com a duração da actividade desenvolvida na mina. Conclusões similares foram obtidas por Göpfert (1988), que aplicou o estudo a profissionais de um talho de grandes dimensões, tendo isolado fungos do género *Trichophyton* nos chuveiros colectivos. Os trabalhadores que desenvolvem as actividades em minas e talhos têm características comuns, nomeadamente a utilização de botas de borracha e a utilização de chuveiros colectivos no fim do turno, devendo esses dois aspectos ser considerados como factores de risco (Seebacher, Bouchara e Mignon, 2008).

Também num estudo realizado por Teles e Rosado (1989), que envolveu 123 trabalhadores de uma fábrica de montagem de automóveis na zona de Setúbal, verificou-se que em 38 (31%) foi isolado *T. mentagrophytes*, em 18 (15%) foi isolado *T. rubrum* e em 10 (8%) foram isoladas outras espécies fúngicas. Verificou-se também que estes trabalhadores calçavam botas de borracha e a maior parte deles tomava banho e mudava de roupa e calçado nos balneários da fábrica. Foram também realizadas colheitas de superfícies recorrendo a zaragatoas estéreis e constatou-se que as espécies de Dermatófitos isoladas nas superfícies foram também as isoladas nos trabalhadores.

Outro grupo profissional também com maior risco de infecção é o dos agricultores que desenvolvem a sua actividade profissional em ambiente húmido e em contacto permanente com animais e matéria orgânica (Sahin, Kaya e Parlak, 2005). Além da agricultura, outros ambientes profissionais podem promover a exposição a fungos como, por exemplo, a produção de animais e plantas, produção de alimentos para animais e ainda serrações, pois, neste último caso, a matéria-prima (madeira) poderá ser profícua em espécies fúngicas, condicionando não só a diversidade, mas também a concentração fúngica (Dutkiewicz, Krysinska-Traczyk e Prazmo, 2001; Lugauskas, Krikstaponis e Sveistyte, 2004). De salientar ainda que o risco acrescido nas serrações poderá também dever-se às condições de armazenagem da madeira, pois se a mesma ocorrer em ambiente exterior poderá facilitar a contaminação fúngica da matéria-prima (Dutkiewicz, Krysinska-Traczyk e Prazmo, 2001).

Vários estudos sobre a exposição profissional, incidindo sobretudo na exposição a fungos através do ar, têm vindo a ser desenvolvidos. Algumas das actividades profissionais alvo de estudo foram quiropatas (Davies, Ganderton e Savage, 1983), produtores de cobertores (Zhicheng e Pangcheng, 1986), refinarias de açúcar (Jensen, Todd e Hart, 1993), nadadores salvadores em piscinas (Rose, Martyny e Newman, 1998), suinicultores (Chang, Chung e Huang, 2001; Rautiala, Kangas e Louhelainen, 2003) trabalhadores de madeira e serralheiros (Dutkiewicz, Krysinska-Traczyk e Prazmo, 2001), marceneiros (Krysinska-Traczyk, Skorska e Cholewa, 2002), agricultores (Adhikari, Reponen e Lee, 2004), trabalhadores de aviários

(Fernandes, 2004), agricultores de milho (Moreno-Ancillo, Domínguez-Noche e Gil-Adrados, 2003) técnicos de saúde (Fleischer, Bober-Gheek e Bortkiewicz, 2006), trabalhadores das piscinas (Brandi, Sisti e Paparini, 2007), trabalhadores de estações de triagem de resíduos (Solans, Alono e Constans, 2007), entre outros.

Além destes, outros profissionais têm vindo também a ser mencionados como tendo um risco acrescido de onicomicose e *Tinea pedis*, designadamente os profissionais do desporto (Szepietowski e Salomon, 2007). Por exemplo, segundo Shiraki, Hiruma e Hirose (2008), a *Tinea corporis*, causada por *Trichophyton tonsurans* constitui um sério problema de saúde pública no Japão para os profissionais do desporto que praticam actividades de combate.

Estudos em nadadores adultos sugerem uma prevalência de *Tinea pedis* de 15 a 20%. A prevalência de *Tinea pedis* em maratonistas é de 22% e em estudos em homens com actividade e treino militar e em trabalhadores de minas de carvão foram encontradas ainda maiores prevalências. Todos estes grupos partilham balneários, sendo por isso plausível que as infecções dermatófitas dos pés se disseminem nestes locais. Colheitas de amostras demonstraram a presença de contaminação dermatófito no pavimento de piscinas e de balneários, justificando desta forma uma possível via de contaminação (Gudnadóttir, Hilmarisdóttir e Sigurgeirsson, 1999).

A prática desportiva está muito associada como factor de risco de *Tinea pedis* (Alvarez, González e Castro, 2004; Djeridane, Djeridane e Ammar-Khodja, 2006; Seebacher, Bouchara e Mignon, 2008), justificando-se por esse motivo as frequências com valores extremos de 61,7% e 84,7% referentes a esta patologia em estudantes de desporto de duas universidades na Alemanha (Ries, 2002).

A actividade física pode causar ou agravar problemas de pele, pois sabe-se que as infecções virais, bacterianas e fúngicas são comuns nos atletas devido ao aquecimento, sudação e fricção, características da prática desportiva. Os atletas ou profissionais do desporto são mais propensos a adquirirem lesões dermatológicas, incluindo as causadas por fungos. A roupa sintética dos atletas e o calçado, que retêm a sudação excessiva, favorecem o desenvolvimento fúngico (Elewski, 2000; McBride e Cohen, 1992). Além disso, em quase todas as modalidades físicas, os pés são bastante solicitados, podendo favorecer o trauma dos pés e, consequentemente, o desenvolvimento de micoses (Levy, 1997). Estudos recentes demonstraram que o impacto dos exercícios físicos extenuantes pode ser prejudicial ao sistema imunológico, pois parece haver aumento da sensibilidade para infecções por vírus e fungos (Hugues, 1997; Garcia Jr, Curi e Curi, 2000; Martínez e Alvarez-Mon, 1999; Rosa e Vaisberg, 2002; Neto e Tedesco, 1999).

Existem também actividades realizadas por atletas profissionais, como a natação, hidroginástica, pilates, entre outras, que são realizadas sem calçado favorecendo a infecção fúngica dos atletas e profissionais. A exposição acrescida resulta do facto de caminharem com os pés descalços em locais contaminados com fungos, devido a escamas de pele infectada. As unhas e pele infectada incorporam material do hospedeiro e da espécie fúngica e é esse composto de partículas conjuntas que permite o processo de infecção, facilitado pela abrasão e sudção dos pés comum nos profissionais do desporto. É por essa razão que as superfícies húmidas de uma piscina, ginásio ou balneários são propícias para infecção fúngica de indivíduos que andam descalços. A posterior utilização de sapatos com os pés húmidos, provocando a humidade constante dos sapatos e, consequentemente, dos pés, favorece um meio favorável ao crescimento fúngico, permitindo o estabelecimento da infecção (Summerbell, 1997).

Pode afirmar-se que vários factores extrínsecos contribuem para contrair *Tinea pedis* e/ou onicomicose, nomeadamente a utilização de balneários (chuveiros e vestiários) e de piscinas (Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi, 2008), a utilização de sapatos fechados (Macura, 1993; Alvarez, González e Castro, 2004; Veer, Patwardhan e Damle, 2007) e a actividade desportiva (Alvarez, González e Castro, 2004; Djeridane, Djeridane e Ammar-Khodja, 2006; Seebacher, Bouchara e Mignon, 2008). Estes factores potenciadores poderão estar reunidos em algumas profissões, como é o caso dos trabalhadores dos ginásios com piscina.

CAPÍTULO III

Exposição Profissional a Fungos

1 – Exposição profissional

A perspectiva da Saúde Ocupacional no contexto do conceito dos anos oitenta, que substitui a intervenção “clássica” da Medicina do Trabalho, envolve quatro etapas metodológicas essenciais no diagnóstico e prevenção das doenças profissionais, designadamente o estudo das situações reais de trabalho, o “diagnóstico” das situações de risco de doença profissional, a selecção dos indicadores de exposição mais adequados e a definição dos decorrentes programas de prevenção (Faria e Uva, 1988; Uva e Faria, 2000).

Qualquer estratégia preventiva, no contexto do binómio trabalho/doença, deverá centrar-se na exigência de avaliar os riscos, primeiro, para projectar, posteriormente, intervenções coerentes (Prista e Uva, 2003). Só o conhecimento das relações “exposição profissional” e “repercussões negativas para a saúde” e a segurança dos trabalhadores expostos permite a avaliação da exposição (*risk evaluation*) como elemento de caracterização das situações de exposição profissional em “aceitáveis” ou “inaceitáveis”. A avaliação do risco em Saúde Ocupacional identifica, por um lado, a exposição profissional e, por outro, os efeitos adversos ou a “resposta” nos trabalhadores expostos (Uva, 2006a).

Qualquer que seja o programa de gestão de riscos profissionais e, independentemente das medidas de controlo implementadas, existem três aspectos que devem ser sistematicamente considerados: 1) a vigilância ambiental; 2) a vigilância da saúde e 3) a informação e formação sobre os riscos profissionais (Uva, 2006a).

Em relação à exposição profissional existem três aspectos que são determinantes para a avaliação de eventuais efeitos adversos: 1) a intensidade da exposição; 2) a duração da exposição e 3) a frequência com que ocorre essa exposição (International Programme on Chemical Safety, 1999). O conceito de exposição profissional está assim intimamente relacionado com o conceito de dose de exposição, isto é, a quantidade de um agente profissional que atinge um trabalhador exposto (Ilo, citado por Uva, 2006a).

A determinação das variáveis da situação de trabalho visa conhecer os factores que podem influenciar a exposição profissional, permitindo, numa fase posterior, identificar de forma detalhada as medidas adequadas de prevenção e controlo dessa exposição. Algumas dessas variáveis são, entre outras, as tarefas desenvolvidas no posto de trabalho, práticas de trabalho, vestuário e calçado dos trabalhadores, configuração do posto de trabalho, sistemas de ventilação existentes, carga de trabalho, parâmetros ambientais como a temperatura, humidade relativa e velocidade do ar que podem influenciar a contaminação fúngica. Assim, em qualquer estudo da exposição profissional será sempre conveniente proceder a uma observação inicial, de modo a serem identificados alguns aspectos importantes, como os mencionados anteriormente. São informações pertinentes e que importa considerar para definir a estratégia a adoptar para a realização da amostragem ambiental, com vista à caracterização da exposição profissional (European Agency for Safety and Health at Work, 2008).

A avaliação da exposição visa a determinação da fonte do factor de risco, do tipo de exposição, da intensidade dessa exposição e da duração da exposição com vista à caracterização da aceitabilidade ou inaceitabilidade do risco. Rodricks (1997, citado por Uva, 2006a) refere que esta etapa é uma fase integradora da informação obtida, através de vigilância ambiental e/ou biológica, que permite confrontar a exposição identificada ao longo do tempo com uma referência, possibilitando estimar o risco para os trabalhadores.

Segundo Sohnle (1996, citado por Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996), será necessário investigar, não só referenciais quantitativos, mas também sobre as espécies a valorizar nos diferentes contextos profissionais e também de lazer. Espécies fúngicas diferentes têm implicações diversas no que respeita aos potenciais efeitos na saúde, estando os mesmos dependentes de uma grande diversidade de variáveis em matéria de susceptibilidade individual (Kibbler, Mackenzie e Odds, 1996). Para corroborar e enfatizar esta questão, a Comissão Europeia solicitou um relatório à Agência Europeia para a Segurança e Saúde no Local de Trabalho que visava a identificação das necessidades em Saúde Ocupacional, tendo sido considerada, como uma das prioridades de investigação, a avaliação e controlo da exposição a agentes biológicos nos locais de trabalho (European Agency for Safety and Health at Work, 2005).

A contaminação por fungos dos ambientes ocupacionais é, assim, um dos principais factores que afectam a saúde dos trabalhadores, sendo essencial, por esse motivo, a criação de medidas que visem a limitação da disseminação dos fungos nos diferentes *settings* profissionais (Lugauskas, Krikstaponis e Sveistyte, 2004). A primeira etapa deverá passar pelo conhecimento das diferentes formas de exposição a esses agentes biológicos.

2 – Formas de exposição a fungos

2.1 - Exposição por inalação

O interesse na exposição a bioaerossóis tem aumentado durante as últimas décadas. Esta situação deve-se ao facto de actualmente estar reconhecido que a exposição a agentes biológicos em ambientes interiores, quer em contexto ocupacional quer em contexto residencial, está associada a uma grande diversidade de efeitos adversos na saúde, com grande impacto na saúde pública, incluindo doenças infecciosas, efeitos tóxicos agudos, alergias e doenças oncológicas. Várias actividades profissionais emergiram nos últimos anos em que os agentes biológicos são abundantes, nomeadamente a indústria da gestão de resíduos e a produção de enzimas microbiológicas bastante utilizadas na indústria alimentar. Outras têm também sido mencionadas enfatizando o elevado risco de infecções ocupacionais, designadamente agricultores, veterinários, técnicos de saúde e investigadores que estudam agentes infecciosos (Douwes, Thorne e Pearce, 2003).

Apesar do reconhecimento da importância da exposição a bioaerossóis na saúde humana, o efeito dos agentes biológicos no desenvolvimento e agravamento dos sintomas ainda é mal compreendido. A relação dose-resposta ainda não foi descrita e o conhecimento sobre valores limites de exposição (com excepção de alguns agentes) ainda não está disponível (Douwes, Thorne e Pearce, 2003). Além disso, o ambiente interior pode confinar os bioaerossóis, contribuindo para o aumento da contaminação fúngica existindo, por esse motivo, maior risco de exposição para os ocupantes dos espaços interiores do que o ambiente exterior (Adeeb e Shooter, 2003).

Para a maioria dos microrganismos possíveis de encontrar nos bioaerossóis, apesar de a relação dose/efeito por inalação ainda não ter sido estabelecida, a comunidade científica concorda que alguns bioaerossóis podem causar problemas de saúde. O interesse internacional nos bioaerossóis, como agente que pode afectar a qualidade do ar nos locais de trabalho, rapidamente incrementou o conhecimento na sua identificação, quantificação, presença nos diferentes locais de trabalho e os efeitos que podem produzir nas pessoas expostas, tendo sido beneficiado o conhecimento científico sobre a avaliação da exposição a fungos através do ar (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). É importante também referir que nos edifícios com problemas, devido a queixas provenientes dos ocupantes, a principal contaminação biológica provém dos fungos e não das bactérias ou vírus (Dearborn, Yike e Sorenson, 1999; Vesper, Dearborn e Yike, 2000; Vesper e Vesper, 2002).

Alguns dos microrganismos que poderão fazer parte dos bioaerossóis são os fungos filamentosos e fungos leveduriformes, sendo também considerados para o efeito os seus esporos e toxinas produzidas (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Os fungos poderão constituir entre 5 a 34% da poluição existente no ar interior (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008).

Até à data, à semelhança de outros agentes biológicos, estudos epidemiológicos ainda não conseguiram estabelecer uma relação causal entre a extensão da presença fúngica, tempo de exposição e efeitos na saúde específicos ou a frequência e a severidade dos sintomas referidos. Os estudos realizados apenas tendem a demonstrar a existência de relação entre a exposição a fungos e o desenvolvimento de sintomas, especialmente sintomas respiratórios (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Mais investigação é necessária para compreender o papel dos fungos nos efeitos sobre a saúde (Zorman e Jersek, 2008).

No entanto, as espécies fúngicas são genericamente identificadas como a causa de doenças alérgicas, cefaleias, irritação ocular, obstrução das vias respiratórias, tosse e outros sintomas (Daisey, Angell e Apte, 2003). Mais de oitenta espécies fúngicas estão associadas a sintomas de alergia no tracto respiratório, como refere Horner, Helbling e Salvaggio (2005), e quase todos os alérgenos microbianos são de origem fúngica, sendo os principais os géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Alternaria*. A asma brônquica parece ser a expressão clínica mais frequente da exposição a espécies fúngicas, principalmente aos géneros *Alternaria* e *Cladosporium* (Tariq, Matthews e Stevens, 1996).

Têm sido utilizadas diferentes abordagens pelos investigadores e profissionais de Saúde Ocupacional sobre a avaliação do risco, levantando questões sobre o tipo de microrganismos ou derivados a investigar, os objectivos e técnicas para amostragem e a interpretação dos resultados, de modo a responder à falta de orientações no que concerne à exposição, à relação dose/efeito, e às medidas mais eficazes para corrigir situações anómalas e a manutenção de condições seguras (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

Segundo a Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993), além dos aspectos enunciados que causam dificuldade em definir limites de contaminação fúngica no ar, outros factores poderão contribuir para o agravamento da situação, nomeadamente: o tipo de meio utilizado no equipamento de colheita, o equipamento de colheita e as características inerentes ao seu funcionamento (velocidade do caudal de colheita, velocidade do caudal de impacto no meio de cultura), tempo de colheita, actividades dos ocupantes do espaço, estação do ano, tipos de ventilação e climatização dos espaços e ainda a zona geográfica.

Além do contexto ocupacional, é necessário considerar a preocupação em matéria de saúde pública. Os problemas de humidade relativa e infiltrações contribuem para a disseminação

fúngica, nomeadamente dos géneros *Aspergillus*, *Alternaria* e *Cladosporium* e, tendo em conta que esta situação tem sido a segunda mais reportada como causa de problemas de qualidade do ar interior em casas, torna-se assim premente a intervenção através da implementação de medidas correctivas (Daisey, Angell e Apte, 2003). Por esse motivo, a presença de fungos no interior é interpretada como problemas de infiltrações de água e humidade acumulada (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008).

Considerando os ginásios com piscinas e tendo em conta que são locais onde podem existir problemas de infiltrações e/ou humidade relativa elevada, facilmente se aceita que, segundo Leoni, Legnani e Guberti (1999), o estado microbiológico do ar deverá ser constantemente verificado e sugeridos novos indicadores microbiológicos das condições de higiene, podendo os fungos representar biomarcadores efectivos da qualidade ambiental, especialmente nestes estabelecimentos (Brandi, Sisti e Paparini, 2007).

2.1.1 - Níveis de referência

Segundo Goyer, Lavoie e Lazure (2001), existem várias explicações para o facto de ainda não existirem valores limite de exposição para os bioaerossóis, nomeadamente:

- A relação dose/efeito ainda não está devidamente estudada, tornando-se difícil de estabelecer essa relação, pois a susceptibilidade individual condiciona muito os resultados em relação aos efeitos na saúde. Além disso, a informação que existe é baseada em relações entre os efeitos na saúde e avaliações ambientais de casos específicos.
- Na maior parte dos casos, os efeitos relatados envolvem espécies específicas, enquanto que em qualquer ambiente a diversidade das espécies é elevada. Os efeitos sinérgicos da múltipla exposição a bioaerossóis, por exemplo, a presença de espécies fúngicas e as micotoxinas produzidas por essas espécies, ainda não foram estudados.
- É difícil realizar estudos epidemiológicos rigorosos com o objectivo de avaliar critérios de avaliação e de efeitos na saúde em grupos com número suficiente de trabalhadores.
- A composição e concentração das espécies são afectadas por vários factores, incluindo alterações nas condições ambientais e no ciclo de vida das diferentes espécies provocando variações acentuadas.
- A informação existente sobre a exposição é baseada em amostragens com pouca duração, pois não é possível avaliar a exposição acumulada ao longo do tempo.
- Nenhum método consegue monitorizar todos os bioaerossóis presentes e muitas vezes verificam-se diferenças significativas nos métodos utilizados.

No que concerne à determinação de riscos para a saúde provenientes dos agentes biológicos, a complexidade provém das diferenças na susceptibilidade individual e na diversidade das propriedades dos próprios microrganismos, dificultando uma adopção universal de directrizes numéricas para níveis de exposição aos fungos (Sigler, Abbott e Gauvreau, 1996). Apesar de já terem sido propostos valores limite para a contaminação fúngica do ar, não existem valores limite de exposição consensuais devido não só à razão anterior, mas também devido à falta de uniformidade dos procedimentos inerentes à monitorização ambiental (Green, Tovey e Sercombe, 2006).

É sugerido que os níveis fúngicos encontrados no ar interior sejam comparados, quantitativa e qualitativamente, com os encontrados no ar exterior, pois os primeiros níveis estão dependentes dos últimos, devido ao facto de várias espécies invadirem os espaços interiores através de janelas e portas abertas (Gelincik, Büyüköztürk e Gül, 2005; Bush e Portnoy, 2001). No entanto, Fischer e Dott (2003) consideram que em edifícios com contaminação fúngica, a incidência dos géneros *Penicillium* e de *Aspergillus* é geralmente superior à do exterior. Por exemplo, numa investigação sobre contaminação fúngica de ar interior em casas de indivíduos doentes com asma brônquica, Senkpiel, Kurowski e Ohgke (1996) encontraram esporos 4 a 40 vezes superiores que os medidos no exterior.

É necessário por isso considerar que, apesar da comparação entre o ambiente interior e o exterior ser sugerida, quando se trata de níveis fúngicos, o ambiente interior e exterior são bastante diferentes, o que por si só justifica a diversidade de espécies entre os diferentes espaços. No entanto, o facto de não existirem níveis limite estipulados no que concerne à contaminação fúngica, torna indispensável a comparação entre os níveis fúngicos interiores e exteriores. Considerando este critério, o *Bioaerosol Committee*, da ACGIH, indica que a concentração fúngica no interior não deverá ultrapassar entre 20 a 25% a contaminação exterior (Morey, 1990).

A comunidade científica, além de propor um critério que assenta na comparação entre as espécies e respectivas concentrações encontradas no ambiente interior em relação ao exterior, sugere também a possibilidade de comparar com outro local que servirá de referência (Almeida, Tavares e Cano, 2009), sendo uma indicação preciosa para avaliar se existe ou não contaminação do ambiente interior. Assim, a qualidade do ar interior, que seja significativamente diferente do exterior, poderá significar que existe um problema de infiltrações e potenciais efeitos na saúde. É necessário, por isso, à semelhança do que acontece no ambiente interior, aplicar uma metodologia de amostragem e análise para avaliação do ambiente de referência, que na maior parte dos casos poderá ser o ambiente exterior.

Relativamente à monitorização da qualidade do ar interior, enquanto não existirem critérios numéricos comumente aceites, a interpretação dos níveis fúngicos terá que ter em conta a situação contextual em que são feitas as monitorizações, como por exemplo se são seleccionados os piores cenários de contaminação fúngica do espaço que se pretende monitorizar. Se as concentrações interiores forem significativamente mais elevadas ou se as espécies encontradas forem diferentes, a existência de bioaerossóis, e/ou locais de proliferação de fungos, será provável. Além das concentrações exteriores, as concentrações obtidas em locais de controlo ou durante a paragem de um processo ou actividade profissional podem também ser utilizados como referência (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

No estudo realizado por Kemp, Neumeister-Kemp e Murray (2002) é referido que espécies fúngicas com potencial patogénico e alergogénico isoladas no ar interior podem sobreviver, crescer e proliferar em ambientes interiores, sendo por isso necessário pesquisar sobre os ambientes adequados, requisitos nutricionais e os parâmetros ambientais, como a temperatura e humidade relativa, que potenciam essa situação.

Em Portugal, o Decreto-Lei nº 79/2006, de 4 de Abril, que aprova o Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios, estipula, para ambientes interiores, a concentração máxima de referência de 500 UFC/m³ no ar, não mencionando critérios de avaliação no que concerne às espécies fúngicas identificadas. Com o objectivo de complementar o diploma legal referido, a Nota Técnica NT-SCE-02 de 2009 (Sistema Nacional de Certificação, 2009), que estabelece a metodologia para auditorias periódicas de qualidade do ar interior, sugere para a avaliação quantitativa e qualitativa da contaminação fúngica no ar o parecer de “não conformidade” quando é ultrapassada a concentração máxima de referência num ou em todos os pontos de amostragem no edifício ou fracção autónoma, quando se verifique a existência de crescimento visível de fungos em qualquer superfície ou, ainda, quando a concentração fúngica no interior for superior à detectada no exterior. Caso se verifique a última condição, deverá também ser avaliada a presença de espécies pouco comuns, não sendo o caso das pertencentes aos géneros *Cladosporium*, *Alternaria* e *Penicillium*.

Além destes critérios e tendo em conta os estabelecidos por Miller, Laflamme e Sobol (1988), deverão também ser considerados os seguintes, para a emissão de parecer de não conformidade:

- Misturas de espécies pouco comuns em maior ou igual número (\geq) 150 UFC/m³
- Uma só espécie pouco comum \geq 50 UFC/m³
- Presença confirmada de *Aspergillus fumigatus*, *Stachybotrys* sp. ou outros fungos tóxicos ou patogénicos, como por exemplo: *Stachybotrys chartarum* (*Stachybotrys*).

atra), *Fusarium* sp., *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger*, *Histoplasma capsulatum* e *Cryptococcus neoformans*.

Relativamente à avaliação quantitativa (UFC/m³), em 1988, Miller, Laflamme e Sobol, depois de estudarem o ambiente fúngico em casas canadianas durante o Inverno, propuseram a implementação de medidas correctivas sempre que se verificassem, num espaço, uma ou mais das seguintes condições: a) maior que (>) 50 UFC/m³ de uma única espécie fúngica; b) > 150 UFC/m³ se forem isoladas várias espécies fúngicas; c) > 300 UFC/m³ se existirem principalmente fungos filamentosos. Em 1992, Miller refere que caso a concentração fúngica em ambiente interior seja consideravelmente inferior à do exterior não deverão existir preocupações sobre uma possível contaminação fúngica.

Nathanson (1995) refere que a presença confirmada de espécies potencialmente patogénicas e toxigénicas, como *Stachybotrys* sp. ou *Fusarium* sp., é inaceitável e que mais de 50 UFC/m³ de uma única espécie ou mais de 500 UFC/m³ no total de espécies é necessária investigação aprofundada.

A OMS refere como concentração máxima de referência 150 UFC/m³ e ainda a inaceitabilidade da proliferação de determinadas espécies fúngicas (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Outros limites quantitativos são sugeridos por diversos autores, nomeadamente por Holmberg (1984) que defende que concentrações inferiores a 2200 UFC/m³ significam ambientes interiores sem contaminação fúngica; Morey, Hodgson e Sorenson (1984) refere que concentrações de 1000 UFC/m³ ou superiores deverão ser pesquisadas as possíveis fontes de contaminação; Ohgke, Geers e Beckert (1987) sugerem que concentrações superiores a 100 UFC/m³ indicam fontes de contaminação interna necessitando de investigação aprofundada; Burge (1990) aconselha investigações aprofundadas sobre as fontes de contaminação interna caso os níveis interiores sejam o dobro dos exteriores e superiores a 1000 UFC/m³; Reynolds, Streifel e McJilton (1990) defendem que concentrações superiores a 500 UFC/m³ deverão ser consideradas como anormais; Godish (1991) estipula que valores acima de 1000 UFC/m³ significam elevada contaminação fúngica; Yang, Hung e Lewis (1993) indicam como valor limite para ambientes interiores 200 UFC/m³, devendo ser implementadas medidas correctivas sempre que ultrapassado; Hurst, Knudsen e McInermey (1997) referem que 100 UFC/m³ é o valor limite para se verificarem reacções alérgicas nos ocupantes dos espaços; Robertson (1997) estabelece o limite de 300 UFC/m³ para ambientes sem indivíduos imunocomprometidos; Klánová (2000) recomenda que concentrações interiores superiores a 2000 UFC/m³ sejam consideradas como um sério risco para a saúde dos ocupantes.

Têm sido definidos valores limite tendo em conta a actividade desenvolvida como, por exemplo, na indústria alimentar, mais especificamente na de lacticínios, foram sugeridos 2 níveis limites: 50 UFC/m³ para a produção de leite, queijos e iogurtes; e 100 UFC/m³ para leite em pó (Zorman e Jersek, 2008). Para a indústria de embalagens de produtos farmacêuticos, os níveis estipulados são de 18 UFC/m³ (Lugauskas e Krikstaponis, 2004).

No caso do ambiente hospitalar foram também estabelecidos níveis para as salas de operações, nomeadamente: menor que (<) 15 UFC/m³ no caso de fungos saprófitas e <0,1 UFC/m³ para os fungos oportunistas patogénicos (Sudharsanam, Srikanth e Sheela, 2008), como as espécies pertencentes ao género *Aspergillus* (Streifel, 1992), apesar de Krzysztofik, em 1992, ter indicado para instalações hospitalares o valor limite de 200 UFC/m³ para a concentração fúngica total (citado por Augustowska e Dutkiewicz, 2006). Também na tentativa de colocar limites de referência nos valores de UFC de fungos em ambientes hospitalares, a ACGIH limita a presença até 100 UFC/m³, utilizando a Comissão Europeia o mesmo limite para ambientes não industriais (Lima e Venâncio, 2001).

Rao, Burge e Chang (1996) referem que, quando existem directrizes quantitativas delineadas por entidades governamentais para fungos existentes no ar, geralmente não se baseiam em efeitos sobre a saúde e são, geralmente, absolutos (numéricos), relativos (quociente entre os níveis interiores com os exteriores) ou a combinação dos dois. Os níveis da contaminação fúngica no ar podem ir desde 100 UFC/m³ a 1000 UFC/m³. Estes podem ser considerados baixos (1 a 499 UFC/m³), médios (500 – 999 UFC/m³) ou altos (\geq 1000 UFC/m³). Em relação aos limites relativos, quando excedem 1 significa que existem grandes probabilidades de existirem fontes interiores de contaminação fúngica (Gallup, Kozak e Cummins, 1987; Hargreaves, Parappukaran e Morawska, 2003; Nevalainen, Willeke e Liebhaber, 1993; Shelton, Kirkland e Flanders, 2002).

Mais recentemente, em 2008, na Conferência da Indoor Air, realizada em Copenhaga, Chan *et al.* apresentaram um índice relativo para a exposição fúngica em ambiente interior (RIFE – Relative Index of Fungal Exposure). Para a obtenção desse índice será necessário realizar o cálculo do produto entre o quociente da frequência de ocorrência de um fungo no interior com a do exterior num total de amostras (percentagem de amostras com o fungo) e o quociente entre a abundância relativa desse mesmo fungo (percentagem de UFC desse fungo no total de UFC) no interior com a do exterior. Se o índice for igual a 1 indica que o risco de exposição fúngica no interior é igual ao do exterior e se o índice for superior a 1 indica que o risco de exposição fúngica é superior no interior, comparativamente com o exterior. Apesar de o índice referido ser inovador, o mesmo ainda carece de aplicação alargada, de modo a testar a sua aplicabilidade.

No que concerne à avaliação qualitativa da contaminação fúngica, é sugerido por Samson (1994, citado por Goyer, Lavoie e Lazure, 2001) que, entre outras espécies, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor* e espécies dos géneros *Trichoderma*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Fusarium* e *Ulocladium*, sejam consideradas como indicadores de problemas de humidade ou de risco para a saúde. Também segundo o guia realizado pela American Industrial Hygiene Association (AIHA), em 1996, para a determinação de contaminação biológica em amostras ambientais, a presença confirmada das espécies *Stachybotrys chartarum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Fusarium moniliforme* implica a implementação de medidas correctivas. A presença confirmada destas espécies ocorre quando se verificam colónias em várias amostras, várias colónias numa única amostra ou mesmo quando se verifica uma colónia numa única amostra, evidenciando o crescimento destas espécies em materiais de construção.

Gravesen (1979) e Dhillon (1991) referem que mais de 100 UFC/m³ para *Alternaria* e mais de 3000 UFC/m³ para *Cladosporium* podem provocar efeitos alérgicos e Holmberg (1987) refere que mais de 50 UFC/m³ para *Aspergillus* pode ser associado com prevalência elevada de síndrome de edifício doente. Burge, Pierson e Groves (2000) referem que 200 UFC/m³ para o género *Cladosporium* indicam intrusão da contaminação fúngica proveniente do exterior.

A Organização de Saúde do Canadá, em 1993 (Health Canada, 1993), estabeleceu um conjunto de critérios quantitativos e qualitativos para a interpretação da contaminação fúngica através da monitorização de 50 edifícios públicos onde foram colhidas 600 amostras entre 1986 e 1991. No entanto, foi salientado que esses critérios, para serem aplicados, as monitorizações devem ser realizadas com o mesmo equipamento e aplicarem o mesmo tempo de amostragem. O equipamento colector de ar utilizado foi o *Reuter Centrifugal Sampler* (RCS) que utiliza o método de impacto em meio sólido para posterior quantificação dos microrganismos e respectiva identificação. O tempo de amostragem foi de 4 minutos por cada amostra, não referindo o caudal colhido. Os critérios estabelecidos foram os seguintes:

- Quantidades significativas de colónias de certos fungos patogénicos não deverão existir no ambiente interior como, por exemplo, *Aspergillus fumigatus*, *Histoplasma* sp. e *Cryptococcus* sp.;
- A persistência de quantidades significativas de colónias de fungos toxigénicos como, por exemplo, *Stachybotrys chartarum*, algumas espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* indicam a necessidade de mais pesquisa e a implementação de medidas correctivas adequadas;

- A presença confirmada de uma ou mais espécies no ar interior, numa percentagem significativa de colheitas realizadas, diferentes das espécies presentes no exterior, significa a presença de fontes de contaminação interiores;
- A micoflora dos ambientes interiores é normal que seja qualitativamente similar e quantitativamente inferior ao exterior;
- Mais do que 50 UFC/m³ poderá ser uma razão de preocupação se existirem espécies diferentes de *Cladosporium* sp. e *Alternaria* sp.;
- Até 50 UFC/m³ é aceitável, desde que seja uma mistura de espécies. Superior a esta quantidade poderá significar sujidade nos filtros do sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado, ou outros problemas;
- Até 500 UFC/m³ é aceitável no Verão, se as espécies presentes forem sobretudo *Cladosporium* sp. ou outras provenientes das árvores. Valores superiores poderão significar contaminações interiores;
- A presença confirmada de colónias de fungos nos pavimentos e tectos prova a presença de intervenção com medidas correctivas, independentemente da quantidade de UFC no ar;
- Se os sintomas nos ocupantes persistirem poderá ser necessário complementar as colheitas de ar com outros métodos de colheitas como, por exemplo, a colheita de pó através de aspiração para posterior identificação fúngica.

O critério que refere que mais do que 50 UFC/m³ poder ser uma razão de preocupação se existirem espécies diferentes de *Cladosporium* sp. e *Alternaria* sp. não é unânime, pois, como já foi mencionado, esses mesmos géneros causam efeitos potencialmente patogénicos apenas devido à sua presença (Miller, 1992), estando considerados como sendo dois dos géneros mais alergénos em conjunto com os géneros *Aspergillus* e *Penicillium* (de Ana, Torres-Rodríguez e Ramírez, 2006).

A Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993) sugere também que, quando se suspeita de que o ambiente interior tem problemas de contaminação fúngica, a análise dos resultados das colheitas biológicas deverá ser centrada na contagem e identificação das espécies fúngicas de origem interior ou provenientes da acumulação no interior e não apenas na análise quantitativa e qualitativa de espécies que transitam do exterior para o interior. A mesma organização sugere também que as concentrações fúngicas e espécies presentes sejam comparadas com as evidenciadas noutros espaços considerados como sem problemas.

Existem limitações em algumas concentrações sugeridas como limites, pois não são baseadas em efeitos na saúde, as colheitas de ar têm uma duração limitada e, ainda, devido à

falta de consenso nos protocolos de colheita (Chão, Schwartz e Milton, 2002). Além destes aspectos, é necessário também considerar que a concentração de toxinas nos esporos, não está dependente da viabilidade dos esporos fúngicos, sendo apenas esses os contabilizados (Daisey, Angell e Apte, 2003). Srikanth, Sudharsanam e Steinberg (2008) acrescentam que a inexistência de valores limite de exposição se deve não só à diversidade de agentes biológicos e de efeitos sobre a saúde, mas também à dificuldade em recuperar alguns microrganismos devido aos procedimentos de colheita.

A identificação fúngica deverá ser, sempre que possível, realizada até ao nível da espécie, pois existem diferentes riscos potenciais associados com a inalação de fungos que libertam toxinas como, por exemplo, os géneros *Aspergillus* ou *Penicillium* e outros fungos que causam efeitos apenas devido à sua presença, como é o caso dos géneros *Alternaria* e *Cladosporium* e ainda para avaliar se a contaminação fúngica provém do interior, em situações que as espécies fúngicas são diferentes das existentes no exterior (Miller, 1992). Assim, para avaliar o risco para a saúde humana é necessário não só ter em consideração os diferentes géneros fúngicos existentes no ar, mas também proceder à identificação, sempre que possível, ao nível da espécie (Basílico, Chiericatti e Aringoli, 2007).

2.1.2 - Fungos veiculados pelo ar

Num estudo realizado na Escócia, o género mais isolado no ambiente interior foi o *Penicillium* e, em segundo lugar, o *Cladosporium* (Stevens, 2004). Segundo Stevens (2004), *Penicillium*, *Cladosporium* e *Aspergillus* foram os fungos predominantes de um estudo realizado em casas na Holanda (Beaumont, Kauffman e de Monchy, 1985), na América do Norte (Miller, Laflamme e Sobol, 1988), no Canadá (Li e Kendrick, 1995), na Alemanha (Dill e Niggemann, 1996), na Austrália (Garrett, Rayment e Hooper, 1998), na Lituânia (Krikstaponis, 2000), em Taiwan (Su, Wu e Chen, 2001) e na Turquia (Unlu, Ergin e Cirit, 2003). Miller (1992) refere que os géneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Alternaria* são os mais comuns em ambientes interiores. Em vários estudos, além dos já enunciados, é também referenciado o género *Aureobasidium* como um dos mais frequentes em ambientes interiores (Bisett, 1987; Ahearn, Price e Simmons, 1992; Mishra, Ajello e Ahearn, 1992; Nelson, Hirsch e Ohman, 1988; Nevalainen, Willeke e Liebhaber, 1993).

No Reino Unido, *Penicillium* é o género cujo isolamento é mais frequente em ambientes interiores, destacando-se bastante dos outros géneros (Stevens, 2004; Burr, Mullins e Merrett, 1988). Na Austrália, os esporos fúngicos que mais contribuem para contaminação fúngica em ambientes interiores pertencem aos géneros *Cladosporium* e *Penicillium* (Dharmage, Bailey and

Raven, 1999; Garrett, Rayment e Hooper, 1998). Na Dinamarca, num estudo realizado por Gravesen, Nielsen e Iversen (1999), investigou-se material recolhido de 72 edifícios com contaminação fúngica, tendo sido isolados mais frequentemente os géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Ulocladium*, *Stachybotrys* e *Cladosporium*. Singh (2001) refere que entre os fungos isolados no ar em ambientes interiores os mais comuns são: *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Eurotium herbariorum*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. (mais especificamente *Aspergillus versicolor*), *Aureobasidium pullulans*, *Mucor* sp., *Phoma* sp. e *Wallemia* sp..

Num estudo realizado em Portugal, que incidiu em escolas e edifícios públicos da zona do Algarve, verificou-se que, nos refeitórios, ginásios, salas de aula, quartos e salas de habitações monitorizados, os géneros mais frequentes foram *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Alternaria* (Nunes e Ladeira, 2007). Noutro estudo, realizado também em Portugal, mas na Região Centro, as espécies fúngicas mais frequentes, em casas de indivíduos atópicos, foram *Rhizopus nigricans* (42,3%), *Aspergillus niger* e *Mucor racemosus* (15,4%), *Penicillium notatum* (13,4%) e *Fusarium culmorum* (5,7%) (Chieira, Loureiro e Paiva, 1990).

Tendo em conta que, de acordo com Kozak, Gallup e Cummins (1980) e Nevalainen (2007), o ar exterior é uma das principais fontes de fungos no ambiente interior, é importante realçar que, segundo o estudo de Cano e Almeida (2008), aplicado ao ar exterior em Lisboa, os géneros mais predominantes foram *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Alternaria*.

Os fungos produtores de micotoxinas são comuns colonizadores de ambientes interiores, como é o caso de espécies dos géneros *Penicillium* (*Penicillium citrinum*, *Penicillium verrucosum* e *Penicillium viridicatum*) e *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus rugulosus* e *Aspergillus unguis*). Outros géneros menos comuns em ambientes interiores que também produzem micotoxinas são: *Stachybotrys*, *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Trichothecium*, *Cylindrocarpon*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Vertinosporium* e *Acremonium* (Tuomi, Reijula e Johnsson, 2000). Como exemplo desta situação, num estudo realizado em três edifícios adjacentes, *Stachybotrys chartarum* e *Aspergillus versicolor* foram considerados como causas de doença pulmonar nos respectivos trabalhadores (Hodgson, Morey e Leung, 1998).

A viabilidade dos esporos fúngicos no ar é, como já foi referido, muito condicionada pelo tipo de esporos de cada espécie fúngica, pois o facto de serem secos ou molhados poderá potenciar a sua disseminação no ar, no caso dos primeiros, ou a sua agregação nas superfícies, no caso dos segundos (Duchaine e Mériaux, 2001).

2.2 - Exposição por contacto

Segundo Sousa, Franco e Rodrigues (2001), tem-se procurado estudar a transmissão de patologias provocadas por fungos através das superfícies de balneários (English e Gibson, 1959; Gentles e Holmes, 1957); de piscinas (Drouhet, Marcel e Labonde, 1967), na areia das praias (Gip e Paldrok, 1966; Sousa, Borregana e Cabrita, 1968; Brandão, Silva e Alves, 2008), superfícies de estabelecimentos de ensino (English e Gibson, 1959) e de estabelecimentos hospitalares (Neves e Xavier, 1964). A presença de Dermatófitos, como *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *E. floccosum*, em calçado, toalhas (Ajello e Getz, 1954), vestuário, roupa de cama (Neves e Xavier, 1964), pentes, escovas do cabelo (Emmons, Binford e Utz, 1970), sabonete, pavimentos dos balneários (Gentles 1956; Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003; Brandi, Sisti e Papparini, 2007; English e Gibson, 1959) e água das piscinas (Drouhet, Marcel e Labonde, 1967) corrobora a transmissão indirecta.

Vários estudos têm sido realizados em diferentes contextos ocupacionais, cujos resultados obtidos são justificados pela utilização de chuveiros colectivos ou a utilização de sapatos oclusos ou de borracha. Alguns exemplos de grupos profissionais são mineiros (Gentles e Holmes, 1957; Gotz e Hantschke, 1965), soldados (Brocks, Johansen e Jorgensen, 1999; Marchlewitz e Zucker, 1965; Noguchi, Hiruma e Kawada, 1995; Sturde e Meier, 1961), trabalhadores de um talho (Göpfert, 1988), trabalhadores de uma fábrica de montagem de automóveis (Teles e Rosado, 1989), trabalhadores de uma fábrica de produtos lácteos no Japão (Maruyama, Hiruma e Yamauchi, 2003), trabalhadores florestais e agricultores (Sahin, Kaya e Parlak, 2005) e maratonistas (Auger, Marquis e Joly, 1993; Lacroix, Baspeyras e de la Salmonière, 2002).

Segundo Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi (2008), a partilha de toalhas, roupa e acessórios do cabelo com indivíduos infectados poderá conduzir à disseminação das dermatomicoses por contacto indirecto. O facto de as pessoas poderem caminhar com os pés descalços em locais contaminados com Dermatófitos, devido a escamas de pele infectada, pode contribuir para a disseminação de infecções (Ali-Shtayeh, Kaleel e Jamous, 2003). Áreas como chuveiros públicos, balneários de ginásios, piscinas e vestiários poderão conter pedaços de pele de um indivíduo infectado (Detandt e Nolard, 1995) e a exposição dos pés descalços a superfícies infectadas poderá apresentar risco acrescido para as infecções fúngicas superficiais (Caputo, De Boule e Del Rosso, 2001).

Num estudo realizado por Lu, Lu e Zhang (2009), em que foram realizadas colheitas de superfícies através da técnica de zaragatoa, verificou-se que a maior parte da contaminação era fúngica e que a mesma poderia ser disseminada para o ar. A maior parte dos indivíduos

contaminados com *Tinea pedis* dissemina os agentes etiológicos no ambiente (superfícies), embora seja difícil de prever a quantidade disseminada. No entanto, sabe-se que os esporos fúngicos são facilmente disseminados para as superfícies, durante a descamação característica desta patologia (Maruyama, Hiruma e Yamauchi, 2003) e que a respectiva aerossolização está dependente das suas características (Duchaine e Mériaux, 2001; Gomes, 2002; Lugauskas e Krikstaponis, 2004).

Têm sido realizados estudos, de modo a perceber quais as profissões que poderão potenciar a infecção fúngica. Num estudo realizado na Índia a indivíduos com onicomicose, as profissões mais comuns eram agricultores e indivíduos que realizavam trabalho doméstico, justificando-se pelo facto da elevada exposição aos agentes etiológicos e também devido à humidade ser característica da maior parte das tarefas desenvolvidas nos 2 grupos profissionais (Veer, Patwardhan e Damle, 2007). Também num estudo realizado na Turquia, numa zona do país em que a agricultura e a criação de animais são as principais actividades profissionais, verificou-se que *Tinea pedis* e *Tinea manum* foram as dermatomicoses mais comuns. Os agentes etiológicos mais frequentes foram, tanto nos agricultores como nos trabalhadores responsáveis pela produção animal, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, e o contacto com os animais foi considerado como um dos factores de risco que condicionam ambas as patologias, bem como a utilização de botas de borracha e meias de fibra (Sahin, Kaya e Parlak, 2005).

No estudo realizado por Leoni, Legnani e Guberti (1999) foi evidenciada uma elevada frequência de *Tinea pedis* entre os utilizadores de piscina (34%), confirmando que a patologia é favorecida pela exposição ao ambiente envolvente à piscina, nomeadamente às suas superfícies. No entanto, o grupo de controlo utilizado nesse estudo, que consistia em praticantes de outros desportos, demonstrou uma prevalência também elevada (27,3%), tornando evidente que o veículo de contaminação mais provável não é a água, mas as superfícies, especialmente a dos balneários, ambiente a que todos os desportistas e profissionais dos ginásios e piscinas estão expostos.

Detandt e Nolard (1995) compararam os resultados obtidos da contaminação por Dermatófitos no pavimento em piscinas públicas tradicionais com piscinas consideradas como paraísos subtropicais. Após as monitorizações realizadas em 45 piscinas públicas tradicionais com 2.110 amostras colhidas, foi obtida a média de 34 Dermatófitos por metro quadrado (m²). Em 5 piscinas consideradas como paraísos subtropicais foram colhidas 727 amostras, tendo sido obtida a média de 11 Dermatófitos por m².

2.2.1 - Níveis de referência

Em relação à contaminação fúngica em superfícies, não existem referenciais legais nacionais, tendo em conta que o Decreto-Lei nº 79/2006, de 4 de Abril, mencionado anteriormente, estipula uma concentração máxima de referência apenas para o ar. Não é analisada a capacidade de aerossolização das espécies fúngicas que se encontram nas superfícies, tendo em conta as suas características, nem as variáveis ambientais que podem potenciar essa aerossolização ou deposição e, consequentemente, não é considerada a possibilidade da contaminação fúngica do ar e das superfícies se influenciarem mutuamente (Singh, 2001).

Segundo Sahay, Parvataneni e Barnes (2009), num estudo realizado nos Estados Unidos da América, para conhecer a contaminação fúngica das superfícies em diversos tipos de estabelecimentos, a quantidade de 50 UFC/cm² deveria ser proposta como limite, salvaguardando, no entanto, que a diversidade quantitativa e qualitativa da contaminação fúngica está dependente de diversas variáveis, o que impede a sua aplicação em contextos diferentes. No entanto, a maior parte dos estudos realizados, para avaliar a contaminação fúngica de um determinado ambiente, realiza apenas colheitas de ar, apesar de outros estudos indicarem que é necessária também a realização de colheitas de superfícies (Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret, 2009; Buttner e Stetzenbach, 1993; Cooley, Wong e Jumper, 1998; Duchaine e Mériaux, 2001; Samson, Hoekstra e Frisvad, 2000; Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008;).

Em Portugal, no âmbito da Monitorização da Qualidade das Areias das Zonas Balneares, realizada pelo INSA desde 2002, estipulou-se, para os parâmetros micológicos, a pesquisa de fungos com forte associação ao Homem e animais homeotérmicos e potencialmente patogénicos, por contacto, inalação e ingestão, distribuindo-se em 3 grupos, nomeadamente: fungos leveduriformes, fungos filamentosos potencialmente patogénicos e/ou alergogénicos e Dermatófitos (Brandão, Silva e Alves, 2008). No Quadro 1 estão os géneros considerados em cada grupo.

Quadro 1 - Parâmetros micológicos a analisar nas areias das praias

Fungos leveduriformes	Fungos filamentosos potencialmente patogénicos e/ou alergogénicos	Dermatófitos
<i>Candida albicans</i> <i>Candida</i> sp. <i>Cryptococcus neoformans</i> Outras leveduras	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus</i> sp. <i>Chrysosporium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Scytalidium</i> sp. <i>Scedosporium</i> sp. <i>Scopulariopsis</i> sp. Outros ¹	<i>Trichophyton</i> sp. <i>Microsporum</i> sp. <i>Epidermophyton</i> sp.

¹ *Histoplasma* sp., *Coccidioides* sp., *Exophiala* sp., *Fonsecae* sp., *Phialophora* sp. e/ou outros que tenham importância clínica relevante, quando presentes como espécie predominante em quantidades significativas (> 500 UFC/grama(g)).

Foram propostos valores máximos recomendados e valores máximos admissíveis para cada grupo, constantes no Quadro 2, tendo em conta a experiência de 7 anos de pesquisa fúngica nas areias das praias e tratamento estatístico realizado aquando do início da monitorização nas areias das praias (Brandão, Silva e Alves, 2002, 2008).

Quadro 2 - Valores máximos recomendados e valores máximos admissíveis para as areias das praias

Parâmetros	VMR	VMA
Fungos leveduriformes	3 UFC/g	60 UFC/g
Fungos filamentosos potencialmente patogénicos	5 UFC/g	85 UFC/g
Dermatófitos	1 UFC/g	15 UFC/g

VMR – Valor máximo recomendado

VMA – Valor máximo admissível

2.2.2 - Fungos veiculados por contacto

Os fungos poderão ser veiculados por contacto com superfícies contaminadas, estando apenas dependentes das suas características intrínsecas que poderão condicionar a sua forma de disseminação (Duchaine e Mériaux, 2001; Gomes, 2002; Lugauskas e Krikstaponis, 2004). Assim, fungos com esporos molhados ou gelatinosos poderão permanecer mais nas superfícies como, por exemplo, o caso dos géneros *Stachybotrys*, *Acremonium*, *Trichoderma* e ainda fungos

leveduriformes, sendo por isso mais fácil contaminarem as superfícies do que outros cujos esporos se mantêm no ar (Duchaine e Mériaux, 2001).

Estudos realizados demonstraram a presença de contaminação dermatófito no pavimento de piscinas e de balneários, justificando desta forma uma possível via de contaminação (Ali-Shtayedh, Khaleel e Jamous, 2003; Detandt e Nolard, 1995; Gudnadóttir, Hilmarisdóttir e Sigurgeirsson, 1999). Segundo Detandt e Nolard (1995), os Dermatófitos mais isolados em superfícies de piscinas são *Trichophyton interdigitale* e *T. rubrum* e, segundo Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous (2003), os mais comumente isolados incluem *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *E. floccosum*.

Além da contaminação no pavimento de piscinas causada por Dermatófitos, outros fungos foram também isolados nessas superfícies, nomeadamente FFND e Leveduras (Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003; Brandi, Sisti e Paparini, 2007), sugerindo que diferentes espécies fúngicas poderão ser veiculadas através do contacto de superfícies contaminadas.

3 – Efeitos sobre a saúde

O conhecimento das relações existentes entre a exposição profissional e as repercussões para a saúde dos trabalhadores obtém-se pelo estudo simultâneo da exposição e dos correspondentes efeitos, sendo necessário para isso a caracterização dos efeitos sobre a saúde devido à exposição a fungos por inalação e contacto (Uva, 2006a, 2006b). Os efeitos sobre a saúde causados pela presença fúngica no ar e nas superfícies têm estimulado o interesse em conhecer os géneros fúngicos predominantes em diferentes ambientes (Solomon, 1975).

Cerca de 112 espécies fúngicas são reconhecidas por libertarem alérgenos que potenciam reacções alérgicas (Li e Yand, 2004). Por esse motivo, as espécies fúngicas são várias vezes identificadas como a causa de doenças alérgicas, cefaleias, irritação ocular, entupimento das vias respiratórias e tosse. *Aspergillus fumigatus* é um dos fungos saprófitas mais disseminados no ar, sendo este capaz de provocar aspergilose severa ou, por vezes, fatal (Yao e Mainelis, 2007). Esta espécie fúngica é o agente mais comum de infecções fúngicas, no entanto outras espécies do mesmo género estão também associadas a infecções, designadamente: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans* e *Aspergillus terreus* (Santour, Dalle e Olivieri, 2009).

Quase todos os alergenios microbianos são de origem fúngica, sendo os principais os géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* (Burrell, 1991) e *Mucor* (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008). Espécies como *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, entre outras, podem provocar reacções alérgicas extremas (Simeray, Mandin e Chaumont, 1995).

Vários estudos internacionais sugerem que a presença dos géneros *Cladosporium* (Daves, 1957; Payá Vicens e Suárez Fernández, 1984), *Alternaria* (Corden e Millington, 2001; Peat, Tovey e Mellis, 1993), *Penicillium* (Rosas, Calderón e Ulloa, 1993) e *Aspergillus* (Rosas, Calderón e Escamilla, 1992; Sporik, Arruda e Woodfolk, 1993) devem ser considerados como causa de alergia fúngica.

A alergia é a mais comum manifestação associada com a exposição a fungos. A maior parte das espécies fúngicas produz proteínas antigénicas que podem causar reacções alérgicas em pessoas sensibilizadas como, por exemplo, asma, rinite e conjuntivite, podendo também, em alguns casos, ocorrer pneumonite de hipersensibilidade (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Numerosos estudos têm sido realizados com o objectivo de tentar identificar e quantificar a contaminação fúngica no ar e relacionar com processos alérgicos, reflectindo, deste modo, a preocupação da comunidade científica com a temática (Al-Subai, 2002; Al-Suwaine, Hasnain e Bahkali, 1999; Croce, Silva e Furtado, 2003; Ibáñez Henríquez, Rojas Villegas e Roure Nolla, 2001; Hyvärinen, Kaarakainen e Meklin, 2009; Menezes, Carvalho e Trindade, 2004; Mezzari, Perin e Santos Jr, 2003; Mitakakis, Tovey e Xuan, 2000; Elvira Rendueles, 2001; Hasnain, 1993). Hyvärinen, Kaarakainen e Meklin (2009) verificaram que a espécie *Aspergillus versicolor*, presente nas colheitas realizadas ao ar, estava associada com situações de asma em crianças.

Várias espécies fúngicas podem produzir diferentes toxinas, dependendo do substrato e dos factores ambientais locais, no entanto os efeitos devido à exposição respiratória a micotoxinas não são bem conhecidos. Os géneros mais associados com a produção de toxinas são *Fusarium*, *Trichoderma* e *Stachybotrys* (American Academy of Pediatrics, 1998). Os efeitos tardios não estão suficientemente estudados; no entanto, sabe-se que algumas micotoxinas como, por exemplo, a aflatoxina libertada pelas espécies *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (conhecida como causadora de cancro hepático), são consideradas carcinogénicas (Pitt, 2000; Goyer, Lavoie e Lazure, 2001) e a Ochratoxin A, produzida pelas espécies *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Penicillium viridicatum* e *Penicillium verucosum*, é considerada como um possível cancerígeno humano (Pitt, 2000;

Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008), não havendo, no entanto, um nível de efeito para a carcinogenicidade (Jarvis e Miller, 2005).

Segundo Tuomi, Reijula e Johnsson (2000), as micotoxinas conhecidas encontram-se bastante disseminadas nos ambientes interiores e algumas das espécies conhecidas como produtoras de micotoxinas são as pertencentes aos já mencionados géneros *Fusarium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys* e ainda *Acremonium*, *Trichothecium*, *Cylindrocarpon*, *Myrothecium*, *Vertinosporum*, *Penicillium* (*Penicillium citrinum*, *Penicillium verrucosum*, *Penicillium viridicatum*), *Aspergillus* (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus rugulosus*, *Aspergillus unguis*), *Bipolaris* e *Chaetomium*. No estudo, realizado pelos mesmos autores, aplicado a casas finlandesas com problemas de infiltrações, verificou-se a existência de micotoxinas em 40% das amostras colhidas.

Em relação às micotoxinas produzidas, estas podem ser absorvidas pela mucosa intestinal, via respiratória e pele. A exposição a micotoxinas ocorre por ingestão, mas também pode ocorrer por inalação em indústrias como processamento de amendoins, processamento de alimentos para animais ou exposição a poeiras (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008), sendo estas libertadas dos esporos fúngicos (Albright, 2001; Fernandez-Pinto e Vaamonde, 1996).

Além das micotoxinas, o ergosterol, que faz parte da constituição dos fungos, em estudos recentes foi considerado como irritante respiratório (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). É sugerida a sua análise quantitativa no ambiente interior, pois poderá ser possível estimar a contaminação fúngica presente (Health Canada, 1993).

Uma exposição específica com elevado risco de doença profissional é a que ocorre com a espécie *Aspergillus fumigatus*, pois além de induzir a sensação alérgica e doença alérgica pulmonar, também pode provocar aspergilose bronco-pulmonar, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (Douwes, Thorne e Pearce, 2003). Espécies de *Aspergillus*, incluindo *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus*, podem crescer no interior dos edifícios e provocar infecções nosocomiais, alergias bronco-pulmonares, aspergiloses e sinusite. Espécies dos géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Mucor* e *Cladosporium* causam infecções respiratórias e reacções alérgicas (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008).

Estudos mais recentes mencionam os fragmentos fúngicos como sendo partes fracturadas de conídios ou hifas fúngicos que foram dispersos no ar devido a perturbações nas colónias, classificando-os em partículas inferiores a 1 micrómetro (μm) e superiores a 1 μm . Verificou-se que as inferiores a 1 μm são dispersas no ar com maior facilidade que os esporos

fúngicos e que poderão, devido às suas dimensões, alcançar os pulmões, enquanto os que têm dimensões superiores a 1 μm , que fazem parte ainda da fracção inalável, poderão causar perturbações respiratórias ao nível das vias respiratórias superiores (Green, Tovey e Sercombe, 2006). No caso do género *Penicillium*, devido ao tamanho diminuto dos seus conídios, facilmente alcança os pulmões e os respectivos alvéolos (Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003).

Em situações em que as concentrações fúngicas são elevadas ou para pessoas que sofrem de problemas respiratórios ou, ainda, para indivíduos imunocomprometidos, a exposição a fungos pode promover o aparecimento de sintomas e de doença. Os efeitos estão dependentes das espécies presentes, dos produtos metabólicos produzidos, da concentração, da duração da exposição e da susceptibilidade individual (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

Em Portugal, nos últimos anos, na população geral, tem vindo a aumentar a prevalência de doenças como a rinoconjuntivite e a asma, com valores entre 15 a 25% e entre 10 a 15%, respectivamente (Nunes e Ladeira, 2007). Várias causas têm sido consideradas, entre elas a poluição do ar interior causada por contaminação fúngica, enfatizando a necessidade de aumentar o conhecimento no que concerne à contaminação fúngica do ar dos espaços interiores, como é o caso dos ginásios com piscina.

No caso dos efeitos sobre a saúde devido a exposição por contacto, é importante mencionar que as infecções fúngicas nos pés, como a *Tinea pedis* e a onicomicose, são as mais comuns e que a forma de contágio de ambas as patologias poderá ocorrer através da exposição dos pés descalços a superfícies infectadas (Detandt e Nolard, 1995). Ambas podem também ter consequências clínicas severas como, por exemplo, infecções bacterianas secundárias, desfiguramento estético e lesões crónicas devido a insucesso terapêutico. Além disso, a onicomicose na unha do pé pode provocar dificuldades na utilização de sapatos, na marcha e na prática da actividade física (Szepietowski e Reich, 2009).

Os membros inferiores são bastante solicitados na maior parte das actividades desportivas, sofrendo influência de factores como a força, repetitividade, posturas inadequadas e compressão mecânica, provocando diversas lesões nas extremidades (Burkhart, 1999; Weineck, 1999) e potenciando as infecções fúngicas.

A *Tinea pedis* e a onicomicose poderão condicionar bastante o desempenho profissional dos trabalhadores, com particular impacto nos profissionais do desporto. Em relação à onicomicose, esta pode evoluir para encravamento da unha, dor, modificações da postura, risco de infecção secundária, necessitando de cirurgia e com consequente absentismo no local de trabalho. Tal facto é preocupante porque afecta negativamente o desempenho e produtividade dos atletas e profissionais do desporto (Díaz, Guillen e Carreo, 2000; Purim, Bordignon e

Queiroz-Telles, 2005; Stone e Dawber, 2000). Num estudo realizado em Hong Kong, a 9.332 adultos, 12,5% dos que tinham onicomicose relataram limitações no trabalho ou na realização de outras actividades, 9,5% desconforto no andar, 8,9% discriminação social e 4,8% dor (Cheng e Chong, 2002).

O trauma e a onicomicose podem estar associados, não só devido ao facto de um poder levar ao outro, mas também por ambos estarem associados à actividade física (Purim, Bordignon e Queiroz-Teles, 2005). Actividades profissionais que potenciam a lesão nas unhas dos pés, como a dos profissionais do desporto, favorecem a inoculação e o crescimento fúngico e, consequentemente, a onicomicose. O dano nas unhas fornece o meio ideal para as espécies fúngicas as invadirem. Além disso, o contacto frequente com a água, devido a banhos sucessivos, lesiona a cutícula favorecendo a invasão fúngica (Surjushe, Kamath e Oberai, 2007).

Estudos têm demonstrado a importância da humidade da pele para a penetração de Dermatófitos na camada córnea. O facto de a pele dos atletas e profissionais do desporto permanecer molhada durante longos períodos pode provocar danos nessa zona, sendo a penetração fúngica facilitada devido a ferimentos ou a traumatismos (Singh, 2001; Braham, Ezzine-Sebai e Arrese, 2001; Ninomiya, Ide e Ito, 1998; Purim, Bordignon e Queiroz-Teles, 2005).

Nos atletas ou profissionais do desporto, tanto a *Tinea pedis* como a onicomicose possuem morbidade elevada já que, pela característica ocupacional, causam maior incapacidade física, interferindo nas suas actividades e causando, por esse motivo, consequências mais significativas (Díaz, Guillen e Carreo, 2000). Além destas duas patologias, outras infecções mais graves poderão surgir devido ao contacto com superfícies contaminadas, estando dependentes das características do agente etiológico (espécie fúngica) e da susceptibilidade individual (características do hospedeiro).

4 – Caracterização da exposição profissional a fungos em ginásios com piscina

A caracterização do risco corresponde à última fase de diagnóstico das situações de risco e consiste na combinação dos resultados da avaliação da exposição profissional e dos respectivos efeitos, na perspectiva de caracterizar uma estimativa dos riscos para a saúde e segurança (International Programme on Chemical Safety, 1999). Os seus principais objectivos são a determinação da fonte, do tipo, da intensidade e do tempo de exposição ao factor de risco.

A combinação da informação recolhida com o desenvolvimento das fases de identificação, dose-resposta e avaliação da exposição permite realizar uma estimativa do risco (Uva, 2006a).

Consiste no último passo metodológico do diagnóstico das situações de risco em Saúde Ocupacional, visando a aplicação de medidas de intervenção correctiva baseadas em estratégias de intervenção e de comunicação do risco (Uva, 2006a). É essencial, para isso, identificar os agentes etiológicos (espécies fúngicas), as patologias que originam (micoses superficiais como a *Tinea pedis* e a onicomicose), descrever o meio onde se encontram os agentes (ginásios com piscinas) e ainda caracterizar os trabalhadores desses estabelecimentos (hospedeiro).

4.1 - Ginásios com piscina

De acordo com o Instituto do Desporto de Portugal (2007), no Distrito de Lisboa existem 153 ginásios e 178 piscinas, devendo-se este número à crescente procura de espaços para a realização de actividade física. Mais recentemente, a oferta em matéria de instalações tem sido mais diversificada, existindo, no mesmo distrito, 30 estabelecimentos que comportam no mesmo complexo ginásio e piscina, partilhando balneários, vestiários e instalações sanitárias.

Segundo o estudo realizado por Marivoet (2001) sobre os hábitos desportivos da população portuguesa, verificou-se que a natação é a segunda modalidade mais praticada, representando 11% das modalidades praticadas e 4% da população em estudo. No mesmo estudo foi possível verificar que os maiores valores de participação desportiva se encontram nos aglomerados populacionais de maior dimensão como é o caso de Lisboa e que as infra-estruturas mais necessárias, de acordo com os inquiridos, são os ginásios e as piscinas, justificando a crescente procura destes estabelecimentos.

A ubiquidade dos fungos, nos ginásios com piscinas, é favorecida pela acumulação de matéria orgânica, complexidade de construção, selecção de materiais, temperaturas altas e manutenção deficiente (Brandi, Sisti e Paparini, 2007; Detandt e Nolard, 1995). Alguns estudos evidenciam também a presença de elevados níveis de humidade relativa frequente nos ginásios e piscinas, sendo, por isso, difícil de dissociar os efeitos da humidade relativa elevada da existência de fungos como factor potenciador da proliferação fúngica (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Outras variáveis ambientais, como a temperatura, velocidade do ar e a entrada de ar novo nos espaços interiores, são influenciadas pelo tipo de sistema de ventilação, sendo este um aspecto a considerar quando analisamos a contaminação fúngica (Wu, Li e Chiang, 2005).

As variáveis ambientais referidas, poderão contribuir para a disseminação fúngica nas superfícies e, consequentemente, para a ocorrência das dermatomicoses nos pés, como é o

caso da *Tinea pedis* e da onicomicose (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Crê-se que o aumento destas patologias nos países desenvolvidos é devido ao incremento da prática de actividade desportiva e, conseqüentemente, da frequência de estabelecimentos desportivos (Havlickova, Czaika e Friedrich, 2008).

Detandt e Nolard (1995) consideram impossível manter os pavimentos deste tipo de estabelecimentos sem Dermatófitos, pelo que sugerem a sensibilização dos profissionais e utilizadores para o risco de infecção e para as respectivas medidas de prevenção. Estes resultados poderão ser tomados em consideração para as piscinas portuguesas e ponderados em contexto de lazer e profissional.

Seebacher, Bouchara e Mignon (2008) referem que o problema principal reside na desinfecção do pavimento de piscinas e balneários, pois verifica-se a contaminação fúngica mesmo após as operações de lavagem e desinfecção. Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous (2003) referem que, nas piscinas, o crescimento fúngico pode ocorrer em quase todo o lado, devido à capacidade destes microrganismos sobreviverem e se propagarem.

Parece poder afirmar-se que a frequência de ginásios e piscinas, com a conseqüente utilização em maior escala de balneários públicos, contribui para o aumento observado mundialmente, principalmente em meio urbano, de *Tinea pedis* e de onicomicose (Roberts, 1992; Guiguen, 1987, citado por Rocha, 1999; Sellami, Sellami e Makni, 2008).

4.2 - Fungos existentes nos ginásios com piscina

As piscinas são, segundo Kamihama, Kimura e Hosokawa (1997), instalações com elevado risco no que respeita a infecção por *Tinea pedis*. O estudo desenvolvido por estes autores, que foi conduzido para demonstrar a elevada prevalência de *Tinea pedis* interdigital em desportistas, analisou as piscinas como via de infecção, mais especificamente actividades como a natação ou pólo aquático, e comparou atletas e não atletas verificando elevados níveis de infecção, e um maior risco relativo de patologia fúngica entre os atletas. Concluiu, também, que as piscinas são a principal via de infecção para a espécie *T. mentagrophytes*.

Foi constatado por Ali-Shtayedh, Khaleel e Jamous (2002) que os Dermatófitos mais comumente isolados nas piscinas incluem *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *E. floccosum*. Estas três espécies são conhecidas como sendo os agentes etiológicos mais comuns de *Tinea pedis* em todo o mundo. Além destas três espécies, outros Dermatófitos foram isolados nas piscinas como, por exemplo: *Microsporum gypseum*, *M. canis* e *Trichophyton verrucosum*. A sua ocorrência apresentou flutuações sazonais com maior incidência nos meses de Primavera e Verão.

Em relação aos FFND, os mais comumente isolados em piscinas incluem os géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium* e *Phoma* (Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003). No caso das Leveduras, segundo Brandi, Sisti e Paparini (2007), além da espécie *Candida albicans*, também foram isoladas espécies do género *Trichosporon* nas superfícies das piscinas.

No estudo realizado por Brandi, Sisti e Paparini (2007) em piscinas italianas, em que identificaram as espécies fúngicas presentes no ar, superfícies e água, foram isolados mais frequentemente 5 géneros, enquanto que os géneros *Alternaria* e *Penicillium* foram encontrados ubiqüitariamente. O género *Aspergillus*, encontrado no ar e nas superfícies, incluía várias espécies, nomeadamente: *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ustus* e *Aspergillus versicolor*. *Cladosporium cladosporioides* foi isolado tanto no ar como na água, enquanto que o género *Trichophyton*, com as espécies *T. rubrum* e *Trichophyton terrestre*, foi isolado em apenas uma das piscinas pertencente à amostra de 10 piscinas.

Nesse mesmo estudo, nas colheitas de ar, os géneros isolados mais frequentemente foram *Penicillium* (33,7%), *Aspergillus* (19,7%), *Cladosporium* (19,7%) e *Alternaria* (13,9%). Outros fungos também isolados no ar, mas em percentagens inferiores, foram *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp. e *Chrysosporium* sp., *Mucor ramosissimus*, *Scopulariopsis* sp., *Cladophialophora bantiana*, *Rhizopus* sp. e o Dermatófito *Trichophyton* sp. Nas superfícies, a percentagem de isolamento, para os mesmos géneros, foi geralmente baixa, tendo sido o género *Fusarium* o mais isolado. Outros fungos foram também isolados nas superfícies como, por exemplo, *Beauveria* sp., *Rhizopus* sp., *Bipolaris* sp., *Stemphylium* sp., *Trichoderma* sp., *Ochroconis constricta*, *Verticillium* sp. e ainda o Dermatófito *E. floccosum*.

4.3 - Trabalhadores dos ginásios com piscina

Os profissionais do desporto partilham balneários, sendo por isso plausível que as infecções dos pés se disseminem nesses locais. As infecções frequentes, causadas por Dermatófitos nos pés dos atletas, estão relacionadas, não só com a maior exposição a esses fungos, mas também devido à maceração natural da pele causada pelas actividades desportivas em questão (Attye, Auger e Joly, 1990). Além disso, estes trabalhadores são os que, devido às características intrínsecas da sua actividade profissional, apresentam mais horas por dia de exposição aos agentes fúngicos, não só por serem os que mais frequentam os locais possíveis de estarem contaminados, como é o caso de balneários, vestiários e piscinas, mas também porque algumas das actividades desenvolvidas são realizadas com os pés descalços. Em países

como a Austrália, Reino Unido e Estados Unidos da América, a incidência de onicomicose tem sido estimada até 20% para os profissionais que frequentam balneários e vestiários (Ellis, Watson e Marley, 1997a).

A infecção, para ocorrer, está dependente não só do estado imunológico do hospedeiro, mas também das características do agente envolvido. Além disso, os factores cutâneos também influenciam os resultados de uma infecção causada por Dermatófitos. Aspectos como o calor, a humidade e a oclusão da pele potenciam a infecção. No caso específico da oclusão, esta facilita a hidratação da camada subjacente da pele e aumenta a emissão de dióxido de carbono, podendo favorecer o crescimento de Dermatófitos. A abrasão da pele, causando a sua fragilidade, aumenta também a susceptibilidade às infecções por esses fungos (Singh, 2001; Ungpakorn, 2005; Purim, Bordignon e Queiroz-Teles, 2005).

A alteração da acidez cutânea, a maceração e o trauma, que ocorrem frequentemente durante a actividade desportiva, favorecem a penetração do fungo tornando os espaços interdigitais locais mais susceptíveis. Embora o suor seja fungitástico, a transpiração excessiva dos pés pode levar à neutralização dos lípidos da camada córnea pela amónia resultante da degradação bacteriana da ureia, o que pode facilitar a proliferação de microrganismos (Elewski, 2000; Ninomiya, 2000; Cestari, Abdala e Assis, 1990; Purim, Bordignon e Queiroz-Teles, 2005).

Os atletas e profissionais do desporto investem muitas horas diárias no treino, de modo a aperfeiçoar as suas técnicas. O desempenho, para ser óptimo, requer que todos os segmentos corporais estejam apropriadamente posicionados para suportar o peso corporal e permitir a intensa movimentação. Se algo interferir na mobilidade normal de uma articulação ou na sua estabilidade, serão necessárias compensações posturais e alterações no movimento que podem resultar em aumento de lesões cutâneas e ungueais (Villard, 2004; Gomes e Erichsen, 2004).

Nas micoses cutâneas, a prevenção é fundamental, principalmente porque em determinados grupos profissionais, como é o caso dos trabalhadores dos ginásios com piscina, as dermatomicoses e outras micoses podem ser consideradas como doenças relacionadas com o trabalho, pois as circunstâncias ocupacionais da exposição aos fungos são factores de risco associados com a etiologia destas infecções.

O tipo de actividade física também contribui para a prevalência de *Tinea pedis*, pois, segundo um estudo realizado a atletas cubanos, os nadadores e os praticantes de atletismo foram os que apresentaram maiores prevalências da patologia (Iglesias-Hernández, Martínez-Machin e Perurena-Lancha, 2009).

Perante as variáveis descritas, torna-se essencial conhecer o risco relativo, de modo a quantificar a associação entre os factores de risco, mais especificamente as características dos

ginásios com piscina que potenciam a contaminação fúngica e os efeitos na saúde (*Tinea pedis* e onicomicose) dos trabalhadores dos ginásios com piscina, permitindo desta forma avaliar a exposição a fungos. A combinação dos dados provenientes da avaliação da exposição e as informações sobre as patologias encontradas (agente causal e lesão) viabiliza uma política de gestão do risco da contaminação fúngica, mediante o aconselhamento das medidas ambientais preventivas e/ou correctivas, bem como a monitorização e a avaliação dos resultados ou ganhos em saúde (Uva, 2006a).

5 – Avaliação e gestão do risco de infecção fúngica

A avaliação do risco é muitas vezes realizada, na perspectiva da sua (in)aceitabilidade, não de forma quantitativa, mas com recurso a vários tipos de análise qualitativa ou semi-quantitativa (Uva, 2006a). Tal metodologia é realizada com o objectivo de atribuir determinada hierarquização do risco, na perspectiva posterior do seu controlo ou gestão. Deve ter-se em conta a metodologia de avaliação de riscos na intervenção correctiva, de modo a determinar um nível de risco ou *score*, associando a componente gravidade dos efeitos na perspectiva da nocividade concreta do factor de risco e de aspectos relativos à frequência dessa ocorrência (Uva, 2006a).

O risco em contexto laboral pode ser interpretado como a combinação da probabilidade de ocorrência de um acontecimento perigoso ou exposição a um factor de risco, com a severidade da lesão ou doença que pode ser causada pelo acontecimento ou exposição (Occupational Health and Safety Advisory Services, 2007). A Gestão do Risco consiste em determinar, após a definição da (in)aceitabilidade do risco, as formas de intervenção para a minimização desse risco ou a sua redução a um nível considerado aceitável. Trata-se de um processo de tomada de decisão sobre o que se deve ou não fazer para reduzir ou eliminar um determinado efeito adverso para a saúde (Uva, 2006a, 2006b).

No caso dos agentes biológicos, e de modo a facilitar a gestão do risco decorrente da sua exposição, estes são classificados, de acordo com a Portaria nº 405/98, de 11 de Julho, conforme a sua perigosidade ou risco de infecção (Lima e Venâncio, 2001), como se pode observar no Quadro 3, que posteriormente condiciona o aconselhamento e implementação das medidas de protecção a aplicar.

Quadro 3 – Classificação dos Agentes Biológicos

Grupo	Definição
1	Agente biológico cuja probabilidade de causar doenças no ser humano é baixa
2	Agente biológico que pode causar doenças no ser humano e constituir um perigo para os trabalhadores, sendo escassa a probabilidade de se propagar na colectividade e para o qual existem, em regra, meios eficazes de profilaxia ou tratamento.
3	Agente biológico que pode causar doenças no ser humano e constituir um risco grave para os trabalhadores, sendo susceptível de se propagar na colectividade, mesmo que existam meios eficazes de profilaxia ou de tratamento.
4	Agente biológico que causa doenças graves no ser humano e que constitui um risco grave para os trabalhadores, sendo susceptível de apresentar um elevado nível de propagação na colectividade e para o qual não existem, em regra, meios eficazes de profilaxia ou de tratamento.

5.1 - Avaliação ambiental

À monitorização ambiental da exposição compete proporcionar dados que permitam identificar os factores de risco, desenvolver estudos epidemiológicos, seleccionar e avaliar a estratégia de controlo da exposição (Sadhra e Gardiner, 1999). A avaliação ambiental reporta à identificação e quantificação do agente no ambiente de trabalho, avaliando o risco para a saúde por comparação com referências apropriadas (Hoet, 1996; Prista e Uva, 2006). Para a caracterização do risco são essenciais monitorizações que facultem dados quantitativos e qualitativos da exposição para melhorar os dados referentes à validade da exposição e do risco e para reduzir a incerteza referente ao risco da população exposta (Lioy, 1995). Assim, a avaliação ambiental visa quantificar e controlar o agente no ambiente de trabalho, avaliando o risco para a saúde por comparação com referências ocupacionais apropriadas (Hoet, 1996).

No contexto da exposição a agentes biológicos, e mais especificamente aos fungos, a dificuldade em estabelecer um método de medição da exposição, através da respiração ou por contacto, é uma das maiores barreiras para conhecer o impacto da exposição e o desenvolvimento de infecções fúngicas (Távora, Gambale e Heins-Vaccari, 2003). Sem limites de exposição (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008) e sem conhecimentos científicos aprofundados sobre a toxicologia, a interpretação dos resultados sobre a avaliação da exposição é complexa e depende da competência dos avaliadores e da experiência de todos os profissionais que intervêm no processo (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

Trata-se, portanto, de estimar o risco para a saúde a partir da quantificação e identificação da contaminação fúngica no ambiente de trabalho, por comparação com

referenciais previamente definidos. No entanto, enquanto em relação à contaminação do ar interior existem referenciais sugeridos por diversos autores (Godish, 1991; Holmberg, 1984; Hurst, Knudsen e McInermey, 1997; Jo e Seo, 2005; Morey, Hodgson e Sorenson, 1984; Ohgke, Geers e Beckert, 1987; Reynolds, Streifel e McJilton, 1990; Yang, Hung e Lewis, 1993), para o caso da contaminação das superfícies não existem referenciais estipulados, dificultando desta forma a análise da contaminação fúngica encontrada.

É também importante referir que na avaliação ambiental de ambientes contaminados por fungos é necessária uma intervenção multidisciplinar, de modo a identificar, avaliar, monitorizar e remediar situações que carecem de intervenção (Singh, 2001).

5.1.1 - Selecção das condições de medição

Quando se monitoriza fungos em ambientes interiores, mais especificamente no ar, é necessário analisar de forma criteriosa as características do equipamento utilizado, os locais alvo de monitorização, a duração das colheitas e a forma como se faz a colheita (Singh, 2001).

Considerando as possíveis influências de todas as variáveis relevantes das situações de trabalho, as condições de medição têm de ser seleccionadas de modo a que os resultados das medições forneçam uma imagem representativa da exposição nas condições de trabalho. Quando for possível identificar claramente as tarefas em que ocorrem as exposições mais elevadas, que no caso dos ginásios com piscina serão ao fim do dia após a utilização do maior número de frequentadores, é preferível realizar as medições nessa altura. Esta abordagem é designada amostragem do caso mais desfavorável (Instituto Português da Qualidade, 2007; Macher, 1999; Piteira, 2007).

Por outro lado, quando se pretende comparar situações como, por exemplo, conhecer a contaminação fúngica nas superfícies antes e depois dos procedimentos de lavagem e desinfecção às superfícies, deverão ser colhidas amostras que representem as duas situações.

5.1.2 - Amostragem

O padrão da amostragem pode ser influenciado por uma variedade de questões práticas, como a frequência e a duração de tarefas particulares que interessa monitorizar e as limitações dos procedimentos laboratoriais aplicados a jusante. Com estas limitações, o processo de amostragem necessita de ser definido para que os dados obtidos sejam representativos da exposição. Se a contaminação fúngica durante um período de trabalho não sofrer alterações significativas, os tempos de amostragem podem ser escolhidos de modo a não abranger o

período total. No entanto, o período de tempo não amostrado representa sempre uma séria fragilidade na credibilidade de qualquer medição da exposição. Como forma de minimizar esta situação, deve proceder-se a uma observação detalhada de todos os acontecimentos que ocorrem fora do período de amostragem e justificar a selecção do período amostrado.

Considerando a Norma Portuguesa sobre Atmosferas de Locais de Trabalho – Guia para apreciação da exposição por inalação a agentes químicos por comparação com valores limite e estratégia de medição (Instituto Português da Qualidade, 2007), os períodos de amostragem podem ser seleccionados tendo em conta a ocorrência de maiores exposições, designando-se amostragem de caso mais desfavorável (Instituto Português da Qualidade, 2007; Macher, 1999; Piteira, 2007). A presunção de serem representativas da totalidade do período de trabalho corresponde a um acréscimo de protecção no processo de apreciação da exposição.

Em relação às formas de colher as amostras, estas poderão ser diversas e a sua selecção depende dos objectivos que se pretende atingir. Segundo Horner (2003), algumas das técnicas mais utilizadas são:

- Fita-cola aplicada a superfícies em que a mesma é pressionada na superfície e depois colocada directamente numa lâmina para observação ao microscópio. Através desta técnica é possível confirmar a colonização dos materiais e, por vezes, identificar as espécies fúngicas envolvidas nessa colonização. Apresenta a limitação de não ser possível quantificar a contaminação fúngica existente.
- Recolha de materiais com suspeita de estarem colonizados por espécies fúngicas. Apresenta a vantagem de a amostra ser manipulada o mínimo possível, pois a mesma pode ser observada directamente ao microscópio, possibilitando também a confirmação da colonização e a identificação das espécies fúngicas envolvidas no processo. Também não permite quantificar a contaminação fúngica existente num espaço.
- Recolha de pó depositado nas superfícies. Permite a identificação das espécies fúngicas que crescem em cultura, fornecendo informações sobre a ecologia do espaço interior, especificamente no que se refere às espécies fúngicas presentes. Podem ser identificadas espécies características de edifícios com problemas de infiltrações e que não são muito comuns no ar, devido às suas características como, por exemplo, espécies dos géneros *Acremonium*, *Chaetomium*, *Stachybotrys* e *Ulocladium*. O pó depositado poderá também consistir numa possível fonte interior de contaminação fúngica. Apresenta as desvantagens inerentes aos métodos culturais: selectividade do meio e identificação apenas das espécies viáveis, pois apenas estas crescem no meio inoculado.

- Placas de deposição expostas ao ar durante um determinado período de tempo. Apresentam as desvantagens inerentes aos métodos culturais já referidas anteriormente, além de estarem muito dependentes das características de disseminação das espécies fúngicas, já que está dependente do seu decaimento.
- Esfregaço por zaragatoa das superfícies. Permite obter as colónias em esporulação das espécies fúngicas e a quantificação das UFC/m² quando o esfregaço é aplicado numa área delimitada. Apresenta também as desvantagens inerentes aos métodos culturais.
- Colheitas de ar. Permitem a quantificação das UFC/m³ se os volumes de ar colhidos forem previamente definidos. É a melhor forma para avaliação da exposição a fungos, permitindo também a comparação com o ambiente exterior, que se considera a principal fonte da contaminação do interior. Apresenta as desvantagens dos métodos culturais e ainda o facto de a variação da contaminação fúngica do ar ser bastante elevada, sendo necessária grande quantidade de colheitas para uma adequada caracterização.

Num estudo realizado por Fleischer, Bober-Gheek e Bortkiewicz (2006), em que se utilizaram as colheitas de ar e placas de sedimentação, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas quando se compararam os dois métodos, pois com as colheitas de ar foi possível isolar mais UFC/m³ do que nas placas de sedimentação, devido ao facto das partículas que transportam as espécies fúngicas serem muitas vezes influenciadas pelas correntes de ar, mantendo-se no ar em vez de sedimentarem.

Vários estudos enfatizam a necessidade de realizar colheitas de superfícies além das colheitas de ar, de modo a caracterizar a contaminação fúngica de um determinado ambiente interior, designadamente os realizados por: Buttner e Stetzenbach (1993), Cooley, Wong e Jumper (1998), Samson, Hoekstra e Frisvad (2000), Duchaine e Mériaux (2001), Muñoz, Burillo e Bouza (2001), Klánová e Hollerová (2003), Lugauskas e Krikstaponis (2004), Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005), Srikanth, Sudharsanam e Steinberg (2008), Hayashi e Osawa (2009), Lu, Lu e Zhang (2009), Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret (2009) e Reboux, Houdrouge e Gloaguidi-Haore (2009).

Contudo, a avaliação ambiental apenas evidencia a exposição no local de trabalho e no estrito contexto das condições em que ela é apreciada. É uma avaliação teórica do risco, na medida em que apenas relata sobre aquilo a que o trabalhador está exposto e é uma avaliação parcelar, uma vez que apenas informa sobre aquela exposição e em relação à fonte em estudo

(Prista e Uva, 2003). É necessário, por isso, complementar a avaliação ambiental com a vigilância da saúde.

5.2 - Vigilância da saúde

A vigilância de saúde pressupõe uma observação cuidadosa de uma pessoa ou de um grupo de pessoas potencialmente em risco de adoecer (Koh e Aw, 2003). Trata-se de um processo de “antecipação” de potenciais efeitos adversos para a saúde. A vigilância em Saúde Ocupacional é desenvolvida tendo em vista, no essencial, a observação próxima de eventuais efeitos relacionados com factores de risco de natureza profissional (Uva, 2006a).

Os objectivos da vigilância da saúde não se circunscrevem ao recurso a biomarcadores, mas incluem também a caracterização de variáveis individuais que podem, de alguma forma, influenciar as situações de exposição profissional. A vigilância pode, entre outros, englobar questionários de sintomas, avaliação clínica das patologias (*Tinea pedis* e onicomicose), exames médicos, exploração de características individuais dos trabalhadores ou avaliação biológica directa ou indirectamente relacionada com a exposição profissional (Uva, 2006a). Pretende-se que um protocolo de vigilância médica inclua exames médicos específicos para situações de risco acrescido, devendo por isso a *Tinea pedis* e a onicomicose serem consideradas como doenças profissionais.

A lista nacional das doenças profissionais (Decreto Regulamentar nº 76/2007, de 17 de Julho), no capítulo das doenças cutâneas, menciona as dermatomicoses cutâneas da barba, do couro cabeludo e das unhas, sendo o factor de risco a exposição a fungos, fazendo referência, como trabalhos susceptíveis de provocar a doença, os realizados em piscinas ou em ambiente quente e húmido ou que impliquem o uso de vestuário ou calçado que provoquem a sudção excessiva e consequente maceração cutânea, como é o caso dos profissionais dos ginásios com piscinas.

As micoses superficiais são doenças profissionais inespecíficas ou “não exclusivas”, pois os respectivos agentes causais existem em todos os ambientes, quer sejam ocupacionais ou de lazer. O pressuposto de que as infecções fúngicas cutâneas dos pés possam constituir uma dermatose ocupacional para os atletas e profissionais do desporto configura, portanto, uma questão que exige pesquisas para que se possam traçar propostas coerentes e efectivas de intervenção. Esse conhecimento pode ter significado do ponto de vista médico, legal e económico, tendo em conta a amplitude das situações de exposição (Lacaz, Porto e Martins, 2002; Purim, 2004; Osawa e Andries Jr, 2003).

Um aspecto essencial do estudo das relações trabalho/saúde (doença) consiste na identificação e caracterização dos efeitos sobre o organismo resultantes da exposição aos factores de risco de natureza profissional e na consequente e essencial interpretação das relações existentes entre aquelas exposições e os efeitos observados. Por esse motivo, e em matéria de prevenção dos riscos profissionais, é essencial a identificação dos factores de risco e a sua caracterização, de modo a identificar as variáveis ambientais que potenciam a contaminação fúngica.

A avaliação do ambiente de trabalho e da saúde do trabalhador são, assim, aspectos complementares numa mesma estratégia de avaliação e prevenção dos riscos, fornecendo informações diferentes e que se completam, nunca devendo ser encaradas como diferentes opções para alcançar um mesmo resultado (Prista e Uva, 2003).

II PARTE – INVESTIGAÇÃO EMPÍRICA

CAPÍTULO IV

Metodologia

1 – Objectivos da investigação

O presente trabalho apresenta os seguintes objectivos:

1.1 - Objectivo geral

Conhecer o risco de infecção e/ou lesão (*Tinea pedis* e onicomicose) nos trabalhadores dos ginásios com piscina e a sua eventual relação com a exposição à contaminação fúngica (ar e superfícies) nos locais de trabalho.

1.2 - Objectivos específicos

- Identificar as espécies fúngicas que infectam os trabalhadores dos ginásios com piscinas;
- Caracterizar a frequência das espécies fúngicas no ar e nas superfícies dos ginásios com piscina;
- Conhecer a relação entre a presença de lesão visível e a infecção fúngica dos trabalhadores e os factores intrínsecos analisados (género, idade);
- Conhecer a relação entre a presença de lesão visível e a infecção fúngica dos trabalhadores com os factores extrínsecos analisados (actividade antes da colheita, animal de estimação, frequência de piscinas, tipo de actividade profissional considerando o calçado, tempo de profissão, horas semanais de trabalho e andar descalço);
- Conhecer a relação das variáveis ambientais (temperatura, humidade relativa, velocidade do ar e número de ocupantes) com a contaminação fúngica no ar e nas superfícies;
- Verificar se existe relação entre a contaminação fúngica do ar e das superfícies;

- Verificar se existem diferenças estatisticamente significativas na distribuição da contaminação fúngica das superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção;
- Verificar se existem diferenças estatisticamente significativas na distribuição da contaminação fúngica das superfícies no Verão e no Inverno;
- Verificar se os limites quantitativos e qualitativos sugeridos internacionalmente e nacionalmente para a contaminação fúngica são cumpridos;
- Estabelecer um padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies, que permita definir níveis semi-quantitativos de estimação do risco de infecção fúngica dos trabalhadores dos ginásios com piscinas;
- Analisar a eventual relação entre as espécies fúngicas isoladas nas superfícies dos ginásios com piscina e as isoladas nos trabalhadores.

2 – Questões da investigação

Tendo em vista os objectivos estabelecidos e anteriormente enunciados, bem como o tipo de estudo a efectuar foram, para a presente investigação, formuladas sete questões de investigação, designadamente:

Questão 1 – Existe relação entre a presença de lesão visível e a infecção fúngica dos trabalhadores e os factores intrínsecos (género, idade) e extrínsecos (actividade antes da colheita, animal de estimação, frequência de piscinas, tipo de actividade profissional considerando o calçado, tempo de profissão, horas semanais de trabalho e andar descalço) analisados?

Questão 2 – Existe relação entre as variáveis ambientais (temperatura, humidade relativa, velocidade do ar e número de ocupantes) e a contaminação fúngica no ar e nas superfícies?

Questão 3 – Existe relação entre a contaminação fúngica do ar e das superfícies?

Questão 4 – Existem diferenças estatisticamente significativas na distribuição da contaminação fúngica nas superfícies entre antes e depois da lavagem e desinfecção e entre o Verão e o Inverno?

Questão 5 – Os limites quantitativos e qualitativos sugeridos internacionalmente e nacionalmente para a contaminação fúngica são cumpridos?

Questão 6 – É possível estabelecer um padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies, que permita definir níveis semi-quantitativos de estimação do risco de infecção fúngica dos trabalhadores dos ginásios com piscinas?

Questão 7 – Existe relação entre as espécies fúngicas isoladas nas superfícies dos ginásios com piscina e as isoladas nos trabalhadores?

3 – Tipo de estudo

O estudo realizado possui uma componente transversal, em que se pretendeu descrever os fenómenos ambientais e biológicos da contaminação fúngica em ambiente profissional e explorar eventuais associações entre variáveis, tendo-se medido a exposição e o efeito em simultâneo (Beaglehole, Bonita e Kjellstrom, 2003). Além disso, apresentou também uma componente longitudinal com a intenção de conhecer as diferenças sazonais da contaminação fúngica das superfícies.

O presente estudo incluiu também uma componente quase experimental, em que não foram controladas todas as variáveis que poderiam influenciar a contaminação fúngica (Aguar, 2007), tendo-se analisado a distribuição fúngica nas superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção nos dez estabelecimentos, à semelhança do estudo realizado por Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005). Posteriormente, num estabelecimento seleccionado dos dez foram aplicadas as componentes longitudinal e quase-experimental.

4 – Desenho do estudo

O processo de investigação comporta duas fases principais: a fase conceptual e a fase metodológica ou empírica. Na fase conceptual, ou enquadramento teórico, realizou-se a escolha e formulação do problema de investigação, efectuando-se uma revisão da literatura existente. Na fase metodológica, foram enunciados os objectivos, geral e específicos, as respectivas questões de investigação, definiu-se a população que se iria tratar e, consequentemente, a amostra a

considerar. Foram ainda determinados os métodos de recolha de dados, essenciais para obter as respostas às questões de investigação (Fortin, 2003).

Ainda na fase metodológica, realizou-se a colheita de dados no terreno, optando-se pela realização de colheitas biológicas aos trabalhadores, no preenchimento de uma grelha de observação inerente à colheita de material biológico, de modo a realizar o registo dos trabalhadores com lesão e outras informações pertinentes para a análise laboratorial, na avaliação ambiental da contaminação fúngica dos ginásios com piscina e, ainda, pelo preenchimento de uma grelha de observação com o objectivo de efectuar o levantamento das variáveis que influenciam a exposição ocupacional às espécies fúngicas. Os trabalhadores responderam a um questionário, em simultâneo às colheitas biológicas, de modo a conhecer algumas das variáveis individuais e profissionais com pertinência para o presente estudo. De seguida, procedeu-se à organização e respectivo tratamento estatístico dos dados recolhidos.

Por último, os resultados foram interpretados e discutidos, de modo a dar resposta às questões de investigação colocadas.

5 – Descrição da população e amostra

Neste estudo, para a vertente transversal, consideraram-se duas populações, designadamente a população de estabelecimentos, ou seja, trinta ginásios com piscina na grande zona de Lisboa e a população de trabalhadores nos 10 estabelecimentos da amostra, mais especificamente todos os 392 trabalhadores dos ginásios com piscina (instrutores de actividade física) que desempenhavam a sua actividade nesses estabelecimentos (Instituto do Desporto de Portugal, 2007).

A amostra de estabelecimentos foi constituída pelos 10 ginásios com piscinas mais frequentados dos 30 existentes, sendo por isso uma amostra não aleatória de conveniência (Fortin, 2003). Segundo os resultados obtidos em diversos estudos, os frequentadores dos estabelecimentos poderão ser uma fonte de contaminação fúngica (Wergikoski, 2004; Buttner e Stetzenbach, 1993; Ekhaie, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956) e, por esse motivo, a amostra de estabelecimentos foi constituída pelos 10 estabelecimentos que apresentavam maior número de frequentadores, reflectindo o caso mais desfavorável no que concerne à contaminação fúngica, segundo as orientações da ACGIH (Macher, 1999) e da Norma

Portuguesa NT-SCE-02 (Sistema Nacional de Certificação, 2009) e, consequentemente, maior impacto negativo em matéria de saúde pública.

Em relação à amostra de trabalhadores foi constituída por, pelo menos, 10 instrutores de cada estabelecimento, perfazendo um total de 124 instrutores. Esta amostra foi dividida em dois grupos, nomeadamente nos trabalhadores “calçados”, que compreendeu os que realizam a sua actividade profissional sempre calçados (*rpm*, *body pump*, *body attack*...) e nos trabalhadores “mistos”, que incluiu os que realizam algumas das actividades, ou todas, com os pés descalços (*yoga*, *pilates*, *body balance*...). Considerando os critérios de inclusão estipulados, foram apenas contemplados os que possuíam como única actividade profissional a de instrutor de actividade física e que se encontravam no estabelecimento no dia das colheitas.

Na componente quase experimental, além dos resultados provenientes das colheitas de superfícies, realizadas nos 10 estabelecimentos, antes e depois da lavagem e desinfecção, foram também considerados os resultados provenientes de um estabelecimento seleccionado da amostra dos 10 estabelecimentos, para conhecer as diferenças da contaminação fúngica das superfícies entre antes e depois da lavagem e desinfecção e entre o Verão e o Inverno. O estabelecimento seleccionado foi o único, da amostra dos 10 previamente monitorizados, que utilizava materiais próprios inerentes à lavagem e desinfecção, evitando desta forma a influência da eventual contaminação cruzada das superfícies proveniente de outros estabelecimentos.

Nesse único estabelecimento, foram realizadas 36 colheitas de superfícies antes e 36 colheitas depois da lavagem e desinfecção, em 6 dias diferentes da semana, durante 6 semanas sequenciais em cada estação do ano (Verão e Inverno), completando um total de 72 colheitas de superfícies.

Nos 392 trabalhadores que constituíram a população, verificou-se que o número de profissionais do género masculino foi superior ao do género feminino, justificando desta forma a distribuição de indivíduos por género na amostra, nomeadamente 75 homens (60,48%) e 49 mulheres (39,52%). Verificou-se também que a amostra (124 profissionais) constituiu 31,6% da população em causa.

6 – Definição de variáveis

As variáveis foram classificadas de diferentes formas, como se apresenta no Quadro 4.

Quadro 4 – Variáveis seleccionadas para o estudo

Variável	Definição	Tipo	Escala
Idade	Independente	Quantitativa	Métrica
Género	Independente	Qualitativa	Nominal Dicotómica
Animal de estimação	Independente	Qualitativa	Nominal Dicotómica
Actividade física realizada antes da colheita biológica	Independente	Qualitativa	Nominal Dicotómica
Tipo de actividade profissional segundo o calçado	Independente	Qualitativa	Nominal
Tempo de profissão	Independente	Quantitativa	Métrica
Horas semanais dispendidas nas modalidades	Independente	Quantitativa	Métrica
Frequência de piscinas (lazer)	Independente	Qualitativa	Nominal Dicotómica
Andar descalço	Independente	Qualitativa	Nominal
Temperatura	Independente	Quantitativa	Métrica
Humidade relativa	Independente	Quantitativa	Métrica
Velocidade do ar	Independente	Quantitativa	Métrica
Número de utentes	Independente	Quantitativa	Métrica
Contaminação fúngica do ar	Dependente	Quantitativa/ Qualitativa	Métrica/Nominal
Contaminação fúngica das superfícies	Dependente	Quantitativa/ Qualitativa	Métrica/Nominal
Lavagem e desinfeção das superfícies	Independente	Qualitativa	Nominal Dicotómica
Presença de lesão nos trabalhadores	Dependente	Qualitativa	Nominal
Isolamento fúngico nos trabalhadores	Dependente	Qualitativa	Nominal
Isolamento de Dermatófitos/Leveduras/fungos isolados	Dependente	Qualitativa	Nominal Dicotómica
Local da lesão	Dependente	Qualitativa	Nominal

7 – Descrição dos instrumentos de recolha de dados

Na recolha de dados é fundamental, não só aplicar a metodologia mais apropriada de recolha de informação, mas também processá-la e analisá-la da forma mais adequada, de modo

a poderem obter-se conclusões que possam ser consideradas representativas da amostra em estudo. Este é um processo que pode ser efectuado por diversos métodos, tendo sido utilizados os seguintes:

- Colheitas biológicas nos pés dos trabalhadores dos estabelecimentos pertencentes à amostra;
- Preenchimento de grelha de observação, aplicada durante a colheita biológica, de modo a registar especificidades inerentes à colheita;
- Questionário aplicado aos trabalhadores que participaram no estudo;
- Avaliação ambiental da contaminação fúngica no ar e nas superfícies dos ginásios com piscina;
- Avaliação de parâmetros físicos como a temperatura, humidade relativa e velocidade do ar;
- Preenchimento de grelha de observação destinada ao registo das variáveis ambientais que influenciam a contaminação fúngica ambiental.

7.1 - Colheitas biológicas

Em relação às colheitas biológicas estas foram realizadas, sempre que possível, após o sujeito ter realizado actividade física e antes do mesmo tomar banho, seguindo o mesmo procedimento que Watanabe, Taniguchi e Katoh (2000) e Lacroix, Baspeyras e de la Salmonière (2002), de modo a ser possível maior recuperação dos microrganismos a pesquisar, pois o banho poderia influenciar, diminuindo, o isolamento de espécies fúngicas nos pés.

Foram realizadas colheitas biológicas em condições que permitiram a obtenção de material biológico apropriado para o respectivo processamento e de acordo com o Manual de Colheitas do Centro de Bacteriologia e Micologia Professor Doutor Arnaldo Sampaio do INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2007). Para as colheitas foram utilizados materiais dos quais se destacam os bisturis para a raspagem de unhas e pele em caso de lesão (descamação da pele e unhas alteradas) e as zaragatoas para passagem nas unhas, planta do pé e zona interdigital quando não se verificava lesão ou, ainda, em situações em que não era possível recolher material por raspagem com bisturi. As zaragatoas foram também utilizadas em vários outros estudos, nomeadamente: Head, Henry e MacDonald (1984), Teles e Rosado (1989) e Friedlander, Pckering e Cunningham (1999). Foram ainda utilizadas caixas de *Petri* para a colecta do material obtido por raspagem, álcool absoluto e lamparinas essenciais à esterilização dos bisturis entre colheitas.

Os técnicos que asseguraram as colheitas biológicas realizaram estágio durante um mês, acompanhado por profissionais com vasta experiência em colheitas para pesquisa de dermatomicoses, no posto de colheitas do Serviço de Dermatologia do Centro de Saúde do Jardim Constantino, de modo a identificarem macroscopicamente as características das lesões nos pés causadas por infecção fúngica, identificando mais facilmente os indivíduos com e sem lesão e, ainda, a recolherem o material biológico mais adequado a cada situação.

Nos casos em que os indivíduos apresentavam lesões visíveis (análise macroscópica), no caso das unhas, espessamento, alteração da cor normal, deformação, fragilidade/unhas quebradiças, descolamento da placa ungueal e, no caso da pele do pé (interdigital e planta), descamação, maceração ou fissuras cutâneas, a colheita foi, sempre que possível, realizada por meio de raspagem recorrendo ao bisturi estéril, de acordo com o realizado por Sahin, Oksuz e Kaya (2004). A descamação resultante foi recolhida em caixas de *Petri* distintas, devidamente identificadas.

Nas situações em que macroscopicamente não se verificaram lesões visíveis, a colheita foi realizada passando uma zaragatoa humedecida em soro fisiológico na zona das unhas e outra na região interdigital e planta de cada pé. Quando os indivíduos apresentavam lesão em apenas um dos locais, unha ou pele do pé, a colheita foi realizada com o bisturi no local com lesão e com a zaragatoa no local sem lesão de acordo, também com o sugerido por Robert e Pihet (2008). Houve casos em que, além de ser realizada a colheita por raspagem com bisturi, por não ter sido colhido material biológico em quantidade suficiente para garantir o seu processamento laboratorial, foi também passada zaragatoa no mesmo local.

As etapas do diagnóstico biológico das dermatomicoses incluem o exame directo microscópico do produto biológico, o exame cultural do mesmo produto, a identificação dos fungos isolados e sua valorização e, ainda, a eventual determinação da sensibilidade dos fungos identificados aos agentes antifúngicos (antifungogramas). Com excepção da última, todas as outras etapas foram realizadas de forma sistemática para as colheitas de material biológico inerente ao estudo, à semelhança do que acontece com todas as colheitas de material biológico pertencentes à rotina normal do Laboratório de Micologia onde foram processadas as colheitas.

Para alcançar o diagnóstico laboratorial, após a realização das colheitas, as amostras foram correctamente identificadas e encaminhadas para o laboratório onde foram sujeitas ao respectivo processamento. Para cada amostra em caixa de *Petri* foram semeados dois meios de cultura em tubo, nomeadamente: meio inclinado de *Sabouraud* com cloranfenicol (Bassiri-Jahromi e Khaksari, 2009) e meio inclinado de agar micobiótico, os quais foram devidamente identificados. Utilizando ansas estéreis, colocou-se em cada um destes meios pequenos

fragmentos da descamação obtida aquando da colheita biológica. De cada uma das amostras colheu-se, ainda, uma pequena porção para o exame directo, colocando-a em lâmina de vidro com hidróxido de potássio (KOH) a 30%, apesar de apenas com este exame não ser possível a obtenção do diagnóstico laboratorial, pois o mesmo apresenta prevalências de falsos negativos entre 5 a 15% (Elewsky, 1998).

Relativamente às amostras colhidas através de zaragatoas, estas foram semeadas em meio *Sabouraud* líquido com cloranfenicol (Bassiri-Jahromi e Khaksari, 2009), introduzindo a própria zaragatoa no interior do tubo. Os meios foram posteriormente colocados na estufa a 27°C durante 15 a 20 dias e controlados, periodicamente, para verificar a evolução do crescimento das colónias.

Após o desenvolvimento das colónias, fez-se a divisão entre colónias de fungos leveduriformes e de fungos filamentosos pois, de uma forma geral, é possível distinguir os fungos através de um simples exame macroscópico das colónias. Esta identificação preliminar constitui um ponto de partida para o processo de identificação.

No caso dos fungos filamentosos previamente reisolados em placas de malte ou, sempre que possível, identificados na placa original, realizaram-se os cortes das respectivas colónias numa câmara de fluxo laminar. Para os cortes dessas colónias procedeu-se da seguinte forma: colocou-se uma gota de azul de lactofenol (Cano e Almeida, 2008; de la Maza, Pezzlo e Baron, 1999; Duchaine e Mériaux, 2001; Fischer e Cook, 1998; Sarica, Asa e Otkun, 2002; Teles e Rosado, 1989) numa lâmina já devidamente identificada e procedeu-se ao corte da respectiva colónia com um bisturi devidamente esterilizado.

Posteriormente, tentou dissociar-se cuidadosamente o corte, utilizando dois bisturis, movimentando-as em sentidos opostos, até formar fragmentos com a menor espessura possível. Pode optar-se também pela técnica da fita adesiva em que a mesma é passada e pressionada por cima das colónias de fungos filamentosos (Lopes, Velho e Amorim, 2002; Teles e Rosado, 1989). Em seguida, colocou-se a lamela sobre o corte, pressionando-se suavemente até o azul de lactofenol estar disperso pelo espaço coberto pela lamela. Por fim, realizou-se a observação e identificação do género/espécie fúngica ao microscópio óptico. No caso dos fungos leveduriformes, as colónias foram reisoladas e incubadas novamente em meio de malte para posterior identificação.

Segundo diversos autores (Grillot, 1996; Larone, 2002; Campbell, Johnson e Philpot, 1996; de Hoog, Guarro e Gené, 2000), a identificação de fungos filamentosos baseia-se num conjunto de critérios, nomeadamente:

- Origem do produto biológico, uma vez que os fungos estão muito directamente relacionados com os habitats que colonizam;
- Velocidade de crescimento das colónias: rápida (<4 dias), média (4 – 10 dias), lenta (>10 dias); este critério é importante sobretudo na identificação dos Dermatófitos, que crescem lentamente;
- Modo de desenvolvimento das colónias, limitado ou invasor;
- Textura da superfície da colónia (lisa, radiada, cerebriforme, etc);
- Quantidade de micélio aéreo (colónias glabras, penugentes, algodoadas);
- Coloração da frente e do reverso das colónias;
- Presença de um pigmento capaz de se difundir no meio de cultura;
- Características microscópicas, observadas após montagem em lâmina de um fragmento da colónia numa gota do corante azul de lactofenol, permitindo observar: a existência de pigmentos a nível da parede das hifas, a presença ou ausência de septos a nível das hifas, o diâmetro das hifas, o ângulo de ramificação das hifas, o tipo de esporulação através da observação da morfologia e organização espacial dos esporos e das estruturas que os suportam.

A identificação fúngica foi, sempre que possível, até à espécie, pois os efeitos adversos sobre a saúde divergem com as diferentes espécies fúngicas (Pasanen, Juutinen e Jantunen, 1992; Rao, Burge e Chang, 1996; Verhoeff, Van Wijnen e Brunekreef, 1992). Foram quantificados e identificados apenas os fungos que cresceram nos meios de cultura seleccionados.

Para o alcance da identificação fúngica ao nível da espécie e especificamente para o caso dos fungos filamentosos, a mesma era obtida através da opinião fundamentada de dois técnicos pertencentes ao Laboratório de Micologia onde foram processadas todas as colheitas. Para a identificação dos fungos leveduriformes, cujas colónias foram reisoladas previamente em placas de malte, recorreu-se ao sistema de identificação bioquímico API, *Kit* ID32C da *bio-Mérieux*, à semelhança dos estudos de Ghannoum, Hajjeh e Scher (2000), Foster, Ghannoum e Elewski (2004), Sahin, Oksuz e Kaya (2004) e Sahin, Kaya e Parlak (2005). A identificação das espécies leveduriformes, através deste método, obtém-se com base nas suas exigências nutritivas mediante a assimilação ou fermentação de compostos carbonados e na resistência ou não à ciclohexamida.

7.2 - Grelha de observação inerente à colheita biológica

Tendo em conta que a história clínica é essencial para a interpretação dos resultados provenientes da cultura, especialmente quando lidamos com espécies de locais não esterilizados como é o caso da pele (Greer, 1994; Murray, Rosenthal e Pfaller, 2005), no decorrer de cada colheita biológica foi preenchida uma grelha de observação, na qual constam informações relativas ao indivíduo e à colheita realizada, destacando-se a informação sobre se apresentavam lesão (*cf.* Apêndice 1 - Grelha de observação inerente à colheita biológica).

Esta grelha de observação encontra-se dividida em duas partes. A primeira parte pretende assegurar a correcta identificação do indivíduo, de modo a que seja possível associar os resultados laboratoriais ao sujeito e, na segunda parte, regista-se a informação sobre a existência de lesão, bem como a sua localização no pé. Pretende-se que estes dados sejam posteriormente tratados estatisticamente, de modo a perceber qual o local de lesão mais prevalente na população em estudo. Nesta grelha registou-se também se o sujeito tinha realizado actividade física antes da colheita biológica, de modo a perceber a influência dessa variável.

7.3 - Questionário aplicado aos trabalhadores

Os resultados micológicos dependem da quantidade e qualidade do material biológico colhido, mas algumas informações sobre o sujeito são também importantes reter, com o objectivo de auxiliar a interpretação dos resultados obtidos (Robert e Pihet, 2008). Além deste objectivo, pretendia-se também a recolha de dados, sobre as variáveis individuais e profissionais, que possibilitasse a resposta às questões de investigação previamente delineadas.

O questionário foi respondido pelos trabalhadores durante a colheita biológica e apresenta três partes distintas. A primeira parte destinava-se à identificação dos indivíduos e respectivas características, nomeadamente: género, ano de nascimento e habilitações literárias, como nos estudos realizados por Szepletowski, Reich e Garlowska (2006) e Sahin, Oksuz e Kaya (2004), e ainda ao levantamento de informação sobre doenças que possam potenciar a contaminação fúngica, como a diabetes (El Fekih, Hicheri e Khelifi, 2004) e a psoríase (Sigurgeirsson e Steingrimsson, 2004), se possuem animal de estimação que funcione como vector de doença para as dermatomicoses alvo do estudo (Chermette, Ferreiro e Guillot, 2008; Iorio, Cafarchia e Capelli, 2007; Manciatì, Nardoni e Corazza, 2003; Pier, Smith e Alexiou, 1994) e, ainda, se frequentavam piscinas ou realizavam outras actividades desportivas nos tempos livres que contribuíssem para o aumento da exposição a fungos (Abanmi, Bakheskwain e El Khizzi, 2008; Castro-López, Casas e Sopo, 2008). Esta parte pretendeu ainda aferir se o

indivíduo já teve ou tinha *Tinea pedis* e/ou onicomicose e se já fez ou estava a fazer tratamento (cf. Apêndice 2 - Questionário aplicado aos profissionais).

A segunda parte pretendia obter informações profissionais pertinentes para o estudo, nomeadamente as modalidades que ministrava e as horas semanais dispendidas nas mesmas, há quanto tempo desenvolvia a actividade profissional e há quanto tempo desempenhava funções no estabelecimento pertencente à amostra, os locais onde andava descalço e ainda o calçado que utilizava na sua actividade profissional.

A terceira, e última parte do questionário, pretendia realizar o levantamento das actividades que o trabalhador realizava nos seus tempos livres, mais especificamente se frequentava piscinas e se realizava actividade física além da realizada no seu desempenho profissional e, ainda, os locais onde andava descalço e o calçado que utilizava na sua actividade de lazer. Foram listadas as actividades físicas consideradas como de risco noutros estudos realizados, nomeadamente natação, pólo aquático, judo, atletismo e ginástica desportiva (Kamihama, Kimura e Hosokawa, 1997; Lacroix, Baspeyras e de la Salmonière, 2002) e, ainda, disponibilizada a opção de designar outra actividade diferente das enunciadas.

No final, o questionário apresenta ainda a declaração de consentimento em participar no estudo.

7.4 - Avaliação ambiental

Foram realizadas colheitas ambientais no ar e superfícies, à semelhança dos estudos realizados por Buttner e Stetzenbach (1993), Cooley, Wong e Jumper (1998), Samson, Hoekstra e Frisvad (2000), Duchaine e Mériaux (2001), Muñoz, Burillo e Bouza (2001), Klánová e Hollerová (2003), Lugauskas e Krikstaponis (2004), Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005), Srikanth, Sudharsanam e Steinberg (2008), Hayashi e Osawa (2009), Lu, Lu e Zhang (2009), Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret (2009) e Reboux, Houdrouge e Gloaguidi-Haore (2009). As colheitas foram efectuadas em locais previamente estabelecidos, de modo a quantificar e a identificar os fungos existentes nos estabelecimentos pertencentes à amostra. A avaliação quantitativa da contaminação fúngica foi essencial, de modo a permitir a associação com as variáveis que se pretende estudar (Ozkutuk, Ceylan e Ergor, 2008).

As colheitas foram realizadas no ar e superfícies, pois os fungos isolados nas duas formas de monitorização são diferentes e impossíveis de prever (Duchaine e Mériaux, 2001). Além disso, apesar de existirem outras formas de detectar a presença fúngica, como é o caso da monitorização de compostos orgânicos voláteis, do ergosterol e das micotoxinas, as mesmas não possibilitam a identificação das espécies fúngicas, aspecto essencial visto as espécies

fúngicas possuírem diferente patogenicidade (Bloom, Nyman e Must, 2009; Johanning, Gareis e Landsbergis, 2009; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008).

7.4.1 - Colheitas de ar e processamento laboratorial

As colheitas de ar permitem determinar a higienização de um espaço e identificar uma situação que pode colocar em causa a saúde dos ocupantes (Ekhaise, Ighosewe e Ajakpovi, 2008). Apesar de ser claro que os fungos patogénicos e toxigénicos provocam efeitos adversos na saúde, os riscos associados a um nível quantitativo são desconhecidos. Seguindo o sugerido pela Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993), as colheitas de ar foram realizadas com o objectivo de indicar a contaminação fúngica no interior dos estabelecimentos alvo do estudo.

Existem vários aspectos que influenciam os resultados sobre a contaminação fúngica do ar de determinado local, designadamente: o local onde são realizadas as colheitas e o equipamento e os meios de cultura utilizados (Verhoeff, Van Wijnen e Boeij, 1990). Os critérios seguidos foram seleccionados tendo em vista a obtenção das respostas às questões de investigação previamente formuladas.

Considerando que as colheitas de ar são o melhor método para caracterizar a contaminação fúngica de um de determinado espaço (Ren, Jankun e Leaderer, 1999), colheram-se amostras de ar de 200 litros cada, à semelhança do que foi realizado no estudo de Zorman e Jersek (2008), durante 1,43 minutos com o caudal de 140 litros por minuto (L/minuto). As colheitas foram realizadas através do equipamento Millipore Air Tester na zona envolvente à piscina, estúdios de treinos, balneários e vestiários de ambos os géneros e ainda no exterior das instalações, por este ser o local considerado como sendo o de referência. Tendo em conta que, de acordo com Nevalainen (2007), o ar exterior é uma das principais fontes de fungos no ambiente interior, considerou-se como local de referência o exterior dos estabelecimentos monitorizados. As colheitas foram realizadas a 50 cm do pavimento à semelhança do estudo realizado por de Ana, Torres-Rodríguez e Ramírez (2006).

Nas colheitas de ar foram obtidos apenas 200 litros de ar de cada local pois, segundo Vackova, Buchta e Prymula (2006), se nos hospitais apenas se devem colher 500 litros de cada vez dado que as placas poderiam ficar colmatadas de tal forma que impossibilitasse a quantificação de UFC e respectiva identificação, considerou-se que os 200 litros constituíam o volume mais adequado para este tipo de estabelecimentos. Samson, Hoekstra e Frisvad (2000) referem também que em locais com salas limpas, como é o caso dos hospitais, deve ser colhido um maior volume de ar do que noutros locais.

Em relação ao tempo de colheita t , tendo em conta que este deve ser estimado por:

$$t \text{ (min)} = \frac{V}{Q}$$

onde Q é o caudal do amostrador, mais especificamente 140 L/min, e V é o volume pretendido da colheita em litros, nomeadamente 200 L, o tempo de amostragem foi de 1,43 minutos. O volume de ar e, por conseguinte, o tempo de colheita foi otimizado para ambientes contaminados e de modo a que a densidade seja adequada para reduzir o erro associado à contagem, mais especificamente inferior a 2 UFC/cm², de acordo com a BS EN 13098:2001 (British Standards, 2001) - Workplace atmosphere - Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin e segundo Oppliger, Hilfiker e Vu Duc (2005). O caudal colhido deverá, assim, possibilitar a contagem e a identificação de colónias fúngicas (Verhoeff, Van Wijnen e Boleij, 1990).

Relativamente ao meio utilizado para a colheita da fracção cultivável, a ACGIH recomenda o meio de malte agar com cloranfenicol - *malt extract agar* - (MEA) como meio colector (Verhoeff, Van Wijnen e Boleij, 1990). Segundo a BS EN 13098:2001 (British Standards, 2001), no seu anexo A, o método utilizado para a colheita da fracção cultivável apresenta as características constantes no Quadro 5.

Quadro 5 – Vantagens e limitações do método utilizado para a colheita da fracção de ar

Método de colheita	Vantagens	Limitações	Ambientes
Impacto em meio semi-sólido	<ul style="list-style-type: none"> - Possível identificar as espécies cultiváveis; - Alguns equipamentos permitem a separação de acordo com a granulometria dos bioaerossóis. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fraco para estimar efeitos tóxicos ou alérgicos; - Pouco adequado para substituir métodos não baseados na cultura; - Apenas permite colheitas estáticas; - Baixo limite de detecção; - Colheita muito curta; - Perda das partículas maiores; - Agregados são contados como uma única colónia; - Só pode ser utilizado um meio de cultura de cada vez; - Precisão é pobre; - Trabalhoso. 	<ul style="list-style-type: none"> - Adequado a ambientes com concentrações relativamente baixas de microrganismos; - Na identificação das fontes é importante conhecer as espécies presentes; - Identificação no ar interior

Fonte: Adaptado da BS EN 13098 (2001)

Em vários estudos foram utilizadas as colheitas de ar como método de monitorização da contaminação fúngica, nomeadamente: Kozak, Gallup e Cummins (1980), Strachan, Flannigan e McCabe (1990), Cooley, Wong e Jumper (1998), Ren, Jankun e Leaderer (1999), Curtis, Ross e Persky (2000), Krysinska-Traczyk e Dutkiewicz (2000), Samson, Hoekstra e Frisvad (2000), Miller, Haisley e Reinhardt (2000), Tsai, Yang e Crandal (2001), Dutkiewicz, Krysinska-Traczyk e Prazmo (2001), Möritz, Peters e Nipko (2001), Trout, Bernstein e Martinez (2001), Gent, Ren e Belanger (2002), Predicala, Urban e Maghirang (2002), Chao, Schwartz e Milton (2002), Kemp, Neumeister-Kemp e Murray (2002), Górny e Dutkiewicz (2002), Rautiala, Kangas e Louhelainen (2003), Távora, Gambale e Heins-Vaccari (2003), Klánová e Hollerová (2003), Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas (2003), Lugauskas, Krikstaponis e Sveistyte (2004), Majumdar e Bhattacharyya (2004), Quezada e Lange (2004), Lugauskas e Krikstaponis (2004), Bartlett, Kennedy e Brauer (2004), Martins-Diniz, da Silva e Miranda (2005), Gelincik, Büyüköztürk e Gül, (2005), Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005), Fleischer, Bober-Gheek e Bortkiewicz (2006), Jo e Seo (2005), Oppliger, Hilfiker e Vu Duc (2005), Vackova, Buchta e Prymula (2006), de Ana, Torres-Rodríguez e Ramírez (2006), Jo e Kang (2005), Perez, Zimmerman e Berhane (2006), Solans, Alono e Constans (2007), Lugauskas e Jaskelevicius (2007), Rodrigues e Araújo (2007), Gül, Issever e Ayraz (2007) Basilico, Chiericatti e Aringoli (2007), Kim, Park e Jang (2007), Zorman e Jersek (2008), Ozkutuk, Ceylan e Ergor (2008), Crawford, Rosebaum e Anagnost (2009), Homna, Hayashi e Hasegawa (2009), Must, Bloom e Sandberg (2009), Ando, Yoshino e Takaki (2009), Sánchez, Muñoz e González (2009), Mentese, Rad e Arisoy (2009), entre outros.

Távora, Gambale e Heins-Vaccari (2003) referem que as colheitas de ar são um método eficiente para estimar a concentração de partículas fúngicas viáveis e a Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993) e Ren, Jankun e Leaderer (1999) defendem que é o melhor método de todos.

Predicala, Urban e Maghirang (2002) revelam que o sistema de impacto apresentou melhores resultados quando comparado com outro tipo de método de colheita. Em relação ao equipamento utilizado para colheitas de ar, o Millipore Air Tester, também utilizado no estudo realizado por Solans, Alono e Constans (2007), está de acordo com o método criado pela United States Pharmacopoeia's Guidelines. Possui placas desenhadas para assegurar a nutrição constante da superfície do meio seleccionado e o filtro possui 1000 micro perfurações, de modo a evitar a sobreposição de colónias. Além disso, possui velocidade de impacto adequada para a recuperação dos microrganismos que se pretende pesquisar.

O colector Millipore Air Tester, segundo o seu manual de utilização, é semelhante ao método “Slit-to-Agar”, no que concerne à eficácia em matéria de recuperação de microrganismos, sendo este um dos métodos mais eficazes segundo Blomquist, Ström e Strömquist (1984), Smid, Schokkin e Boleij (1989) e a ACGIH (Verhoeff, Van Wijnen e Boleij, 1990) e um dos recomendados pela Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993). Este método apenas não é recomendado para ambientes muito contaminados pois, mesmo com períodos de colheita curtos, as placas de meio ficariam bastante colmatadas, podendo algumas das espécies fúngicas produzir determinados metabolitos, causando a inibição de outras espécies (Blomquist, Palmgren, e Ström, 1984). No entanto, este mesmo método foi utilizado num estudo aplicado a estações de triagem de resíduos, em que as concentrações fúngicas foram bastante elevadas (Solans, Alono e Constans, 2007).

Aquando da realização das colheitas, o colector de ar (Millipore Air Tester) possuía calibração válida, essencial para assegurar a colecta do volume de ar pretendido (Singh, 2001). De acordo com a Norma Portuguesa NT-SCE-02 (Sistema Nacional de Certificação, 2009), antes de cada colheita os amostradores foram limpos com gaze esterilizada, embebida em álcool etílico a 70%. As colheitas foram realizadas sempre ao fim do dia, a partir das 21 horas, de modo a monitorizar o pior cenário no que concerne à contaminação fúngica, perfazendo um total de 50 colheitas. Após as colheitas, as placas foram seladas com parafilme para evitar contaminações e as mesmas transportadas em ambiente refrigerado (Kim, Park e Jang, 2007) até ao Laboratório de Micologia e processadas no próprio dia.

Apesar de na Norma Portuguesa NT-SCE-02 (Sistema Nacional de Certificação, 2009) estar referido que as colheitas de ar devem ser realizadas no período representativo de ocupação, decorridas duas a três horas após o início do funcionamento dos espaços, ou quando tenham sido atingidas as condições de equilíbrio, é importante realçar que quando as colheitas de ar são efectuadas durante ou depois de actividade humana, um número maior de microrganismos é detectado (Instituto Português da Qualidade, 2007; Macher, 1999; Piteira, 2007). Como tal, a avaliação ambiental de fungos alcança uma maior representatividade quando efectuada ao final do dia, após o cumulativo do movimento diário de pessoas, delineando a pior situação em termos de presença de fungos tanto no ar como em superfícies.

As etapas decorrentes do método laboratorial são as constantes em Kamihama, Kimura e Hosokawa (1997) e consistem na sementeira dos produtos ambientais, leitura e interpretação dos resultados através de exame cultural para, após incubação, posterior contagem de UFC e identificação de espécies fúngicas. De uma forma mais pormenorizada, podemos descrever os procedimentos laboratoriais da seguinte forma:

Os meios MEA utilizados em vários estudos para cultura de espécies fúngicas, designadamente: Teles e Rosado (1989), Verhoeff, Van Wijnen e Boleij (1990), Ren, Jankun e Leaderer (1999), Tuomi, Reijula e Johnsson (2000), Curtis, Ross e Persky (2000), Krysinska-Traczyk e Dutkiewicz (2000), Tsai, Yang e Crandal (2001), Möritz, Peters e Nipko (2001), Sarica, Asa e Otkun (2002), Kemp, Neumeister-Kemp e Murray (2002), Chao, Schwartz e Milton (2002), Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas (2003), Horner, Worthan e Morey (2004), Lugauskas e Krikstaponis (2004), Çolakoglu (2004), Asan, Ilhan e Sen (2004), Lugauskas, Krikstaponis e Sveistyte (2004), Bartlett, Kennedy e Brauer (2004), Jo e Seo (2005), Fang e Ouyang (2005), Gelincik, Büyükoztürk e Gül (2005), Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005), Oppliger, Hilfiker e Vu Duc (2005), Aydogdu, Asan e Otkun (2005), de Ana, Rorres-Rodríguez e Ramírez (2006), Perez, Zimmerman e Berhane (2006), Lugauskas e Jaskelevicius (2007), Basilico, Chiericatti e Aringoli (2007), Gül, Issever e Ayras (2007), Kim, Park e Jang (2007), Wong, Mui e Hui (2008), Roussel, Reboux e Bellanger (2008), Sánchez, Muñoz e González (2009) e Mentese, Rad e Arisoy (2009) foram acoplados no Millipore Ar Tester e, após as colheitas, colocados na estufa a 27° C durante 5 a 7 dias, sendo controlados periodicamente para verificar a evolução do crescimento das colónias.

Após o desenvolvimento das colónias, os subsequentes procedimentos foram semelhantes aos levados a cabo para as colónias resultantes das colheitas biológicas, tendo sido obtidos resultados quantitativos (UFC/m³) e qualitativos através da identificação das espécies fúngicas isoladas.

Para posterior análise e discussão dos resultados deverão ser comparados, quantitativa e qualitativamente, os resultados de todos os locais, com o local de referência (exterior) (Reponen, 1990), utilizar o quociente entre os níveis interiores e exteriores (Rao, Burge e Chang, 1996) e, além disso, interpretar e analisar a presença e quantidade de determinadas espécies fúngicas (American Industrial Hygiene Association, 1996).

A colheita de amostras de ar sem a complementaridade de colheitas de amostras de superfícies pode não ser suficiente e eficiente para identificar correctamente a contaminação microbiológica do local em análise (Buttner e Stetzenbach, 1993; Cooley, Wong e Jumper, 1998; Duchaine e Mériaux, 2001; Samson, Hoekstra e Frisvad, 2000; Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008), sendo por isso necessário que a avaliação ambiental, no que concerne à contaminação fúngica, contemple também as colheitas de superfícies.

As colheitas de superfícies como complemento às colheitas de ar são utilizadas para identificar locais de contaminação e as respectivas fontes de contaminação. Podem também ser utilizadas para avaliar a eficácia da lavagem e desinfecção (Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

A contaminação fúngica do ar pode provocar a contaminação fúngica das superfícies (Singh, 2001) e a aerossolização ou deposição das espécies fúngicas depende de diversas variáveis ambientais e fúngicas (Górny, 2004; Górny, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008; Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

Considerando o objectivo geral do presente estudo, as colheitas de superfícies são essenciais para analisar a eventual relação entre as espécies fúngicas presentes no ambiente profissional e as presentes nos trabalhadores, à semelhança do estudo realizado por Teles e Rosado (1989).

7.4.2 - Colheitas de superfícies e processamento laboratorial

As colheitas de superfícies, segundo a Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993), poderão complementar os resultados obtidos nas colheitas de ar e, em alguns casos, quando a contaminação fúngica é visível macroscopicamente, poderão mesmo substituir as colheitas de ar. Além disso, quando os locais são devidamente seleccionados, as colheitas de superfícies podem reportar deficiências não só ao nível da higienização, mas também sobre a insuficiente filtração do ar (Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau, 2002).

À semelhança do que foi realizado nos estudos de Buttner e Stetzenbach (1993), Cooley, Womg e Jumper (1998), Samson, Hoekstra e Frisvad (2000), Duchaine e Mériaux (2001), Muñoz, Burillo e Bouza (2001), Klánová e Hollerová (2003), Lugauskas e Krikstaponis (2004), Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005), Srikanth, Sudharsanam e Steinberg (2008), Hayashi e Osawa (2009), Lu, Lu e Zhang (2009), Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret (2009) e Reboux, Houdrouge e Gloaguidi-Haore (2009), além das colheitas de ar, foi também monitorizada a contaminação fúngica nas superfícies. No presente estudo, a amostra probabilística foi constituída por 10 ginásios com piscina onde se colheram amostras de 60 locais (6 locais de cada estabelecimento).

As colheitas de superfícies foram realizadas antes e após a lavagem e desinfecção, à semelhança do estudo realizado por Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005), próximo do tanque (piscina), próximo do *jacuzzi*, nas escadas de acesso (à zona envolvente à piscina), nos estúdios de treinos onde se realizavam maior número de actividades com pé descalço e nos balneários e vestiários de ambos os géneros, perfazendo um total de 120 colheitas.

Foi também monitorizada a contaminação fúngica das superfícies, antes e após a lavagem e desinfecção, nos mesmos locais previamente seleccionados, num único estabelecimento no Verão e no Inverno, tendo sido realizadas colheitas em 6 dias diferentes da

semana (excluindo o Domingo, por se tratar do dia com menos afluência de frequentadores), em semanas sequenciais e em ambas as estações do ano.

A técnica de esfregação por zaragatoa para pesquisa de espécies fúngicas em superfícies tem sido referida em vários estudos, nomeadamente por Staib e Grosse (1983), Head, Henry e MacDonald (1984), Teles e Rosado (1989), Kamihama, Kimura e Hosokawa (1997), Samson, Hoekstra e Frisvad (2000), Muñoz, Burillo e Bouza (2001), Panagopoulou, Filioti e Petrikos (2002), Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau (2002), Stetzenbach, Buttner e Cruz (2004) Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005) e Lugauskas e Jaskelevicius (2007). A aplicação da técnica foi realizada de acordo com os procedimentos constantes no AIHA Field Guide for the Determination of Biological Contaminants in Environmental Samples (American Industrial Hygiene Association, 1996) e na ISO 18593:2004 (International Organization for Standardization, 2004) e utilizando um quadrado de metal inoxidável de 10 cm de lado, que foi desinfectado com álcool etílico a 70%, entre colheitas. As amostras foram transportadas em ambiente refrigerado e processadas no próprio dia.

As colheitas foram realizadas ao fim do dia, a partir das 21 horas, ou seja, antes da lavagem e desinfecção (ALD), representando o pior cenário de contaminação fúngica (NT-SCE-02, 2009) e antes dos estabelecimentos abrirem aos utentes, antes das 7 horas, ou seja, depois da lavagem e desinfecção (DLD). Esta rotina de colheitas permitiu avaliar a eficácia da higienização aplicada às superfícies.

As zaragatoas foram processadas recorrendo à técnica de espalhamento por estrias em 3 meios de MEA e em 3 meios de agar micobiótico com ciclohexamida (AM), tendo sido realizadas 3 réplicas por amostra. Posteriormente, os mesmos meios foram colocados na estufa a 27° C durante 5 a 7 dias no caso dos meios de MEA e durante 15 a 20 dias no caso dos meios de AM e controlados, periodicamente, para verificar a evolução do crescimento das colónias. Após o desenvolvimento das colónias foram realizados os mesmos procedimentos laboratoriais que os efectuados para obtenção da identificação das espécies fúngicas provenientes das colheitas biológicas e do ar.

Em relação aos AM, estes foram utilizados noutros estudos (Aquino, Constante e Bakos, 2007; Kaur, Kashyap e Bhalla, 2008; Segundo, Martínez e Arenas, 2004; Teles e Rosado, 1989) e aplicados com o objectivo de pesquisa de fungos de crescimento mais lento, como é o caso dos Dermatófitos. Segundo o Procedimento do Laboratório de Micologia do INSA, para a identificação dos Dermatófitos deve utilizar-se o meio de AM e, no caso de se ter dúvidas nessa identificação, deve repicar-se para o meio de MEA. Os restantes fungos filamentosos foram identificados a partir do meio de MEA.

Após o crescimento das colónias, as mesmas foram quantificadas mas, devido ao elevado número de placas e de colónias fúngicas para identificar, houve necessidade de refrigerar as placas (3 a 5° C), como realizado no estudo de Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005), de modo a evitar o crescimento excessivo das colónias nas placas e dificultar a respectiva identificação. Este procedimento apenas foi efectuado nas colheitas realizadas às superfícies devido à quantidade de colónias que cresceram em cada placa.

Após processamento laboratorial e incubação das amostras colhidas, foram obtidos resultados quantitativos (UFC/m²) e qualitativos através da identificação das espécies fúngicas isoladas.

7.4.3 - Avaliação dos parâmetros físicos

A avaliação dos parâmetros físicos temperatura, humidade relativa e velocidade do ar foi realizada em simultâneo e nos mesmos locais onde foram efectuadas as colheitas de ar, nomeadamente: local de referência (exterior), nave da piscina, estúdio, balneários e vestiários femininos e masculinos. Os resultados obtidos foram anotados na grelha de observação, tendo a medição sido realizada através do equipamento BABUC-A da Empresa *LSI Systems*. Este equipamento consiste num instrumento portátil que permite visualizar os valores instantâneos, mínimos, máximos e médios e os desvios *standard* dos valores registados e segundo a ISO 7726:1998 (International Organization for Standardization, 1998).

Os requisitos legais para os parâmetros em causa são estipulados pela Directiva proveniente do Conselho Nacional de Qualidade, a CNQ 23/93 (Conselho Nacional da Qualidade, 1993), relativa às disposições de segurança, higio-sanitárias e técnico-funcionais que devem ser observadas nas piscinas e nos estabelecimentos dedicados a actividades recreativas aquáticas de uso público, o Decreto-Lei nº 243/86, de 20 de Agosto, que aprova o Regulamento Geral de Higiene e Segurança no Trabalho nos estabelecimentos comerciais, de escritórios e serviços e ainda o Decreto-Lei nº 79/2006, de 4 de Abril, que aprova o Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios (RSECE). Estes documentos estabelecem os valores de referência apresentados no Quadro 6.

Quadro 6 - Valores de referência dos parâmetros físicos

Local	Temperatura (°C)	Humidade relativa (%)	Velocidade do ar (m/s)
Nave da piscina	25-30*	55 a 75*	≤0,2*
Estúdio	18-22**	50- 70**	≤0,2***
Balneários e vestiários	22-24*	—	≤0,2***

(*) Valores estabelecidos pela CNQ 23/93.

(**) Valores estabelecidos pelo Decreto-Lei n° 243/86, de 20/08.

(***) Valores estabelecidos pelo Decreto-Lei n° 79/2006, de 04/04.

Além dos requisitos legais mencionados, a EPA (2001), a ACGIH (Sterling, Arundel e Sterling, 1985) e a ASHRAE (1992) recomendam como valor máximo de humidade relativa 60%, de modo a evitar a proliferação fúngica em ambientes interiores.

Em vários outros estudos foi também realizada a medição das variáveis ambientais temperatura e humidade relativa, nomeadamente: Strachan, Flannigan e McCabe (1990), Sigler, Abbott e Gauvreau (1996), Cooley, Wong e Jumper (1998), Duchaine e Mériaux (2001), Möritz, Peters e Nipko (2001), Predicala, Urban e Maghirang (2002), Klánová e Hollerová (2003), Majumdar e Bhattacharyya (2004), Bartlett, Kennedy e Brauer (2004), Aydogdu, Asan e Otkun (2005), Gelincik, Büyüköztürk e Gül (2005), Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005), Gül, Issever e Ayraz (2007), Kim, Park e Jang (2007), Ozkutuk, Ceylan e Ergor (2008), Roussel, Reboux e Bellanger (2008), Crawford, Rosebaum e Anagnost (2009), Homna, Hayashi e Hasegawa (2009), Hayashi e Osawa (2009), Ando, Yoshino e Takaki (2009), Mentese, Rad e Arisoy (2009), Sánchez, Muñoz e González (2009) e Lu, Lu e Zhang (2009).

7.5 - Grelha de observação para as variáveis ambientais

O preenchimento da grelha de observação, referente às variáveis ambientais, teve por objectivo efectuar o registo das mesmas, tendo sido preenchida durante a avaliação ambiental. Foram registados os valores obtidos da temperatura, humidade relativa e velocidade do ar, da manutenção realizada ao sistema de ar condicionado, frequência de lavagem das superfícies e ainda o número de ocupantes e as actividades realizadas nos diferentes espaços (*cf.* Apêndice 3 – Grelha de observação para as variáveis ambientais).

Este instrumento foi elaborado tendo como base as variáveis referenciadas na literatura como influenciadoras da contaminação fúngica, nomeadamente, a temperatura e a humidade

relativa (Arundel, Sterling e Biggin, 1986; Kakde, Kakde e Saoji, 2001), a velocidade do ar (Al-Subai, 2002), o número de trabalhadores e frequentadores que frequentaram os espaços (Wergikoski, 2004; Buttner e Stetzenbach, 1993; Codina, Fox e Lockey, 2008; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Ekhaize, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956), a existência de sistema de ar condicionado (Kemp, Neumeister-Kemp e Esposito, 2003), as modalidades desportivas realizadas (Buttner e Stetzenbach, 1993), entre outras.

Esta grelha de observação encontra-se dividida em nove partes, nomeadamente: a identificação e caracterização dos estabelecimentos, o levantamento do número de trabalhadores e frequentadores e as modalidades que ministram/frequentam, as condições de ventilação, as características dos serviços anexos, como o revestimento de paredes e pavimento e a frequência das operações de lavagem e desinfecção. Apresenta ainda uma tabela para registo dos parâmetros físicos medidos (temperatura, humidade relativa e velocidade do ar) e outra tabela para registo do horário das colheitas de ar e superfícies.

8 – Determinação do risco de infecção fúngica cutânea

A *Tinea pedis* e a onicomicose apresentam, como forma de contágio, a exposição dos pés descalços a superfícies contaminadas (Caputo, De Boulle e Del Rosso, 2001). O risco de infecção está, por esse motivo, dependente da contaminação fúngica que possa existir nas superfícies dos locais de trabalho. Considerando a contaminação fúngica das superfícies influenciadora da prevalência da infecção nos trabalhadores, pretendeu-se criar um método que possibilite estimar o risco de infecção fúngica cutânea.

A BS 8800:1996 (British Standards, 1996) e os Sistemas de Gestão de Saúde e Segurança no Trabalho (Occupational Health and Safety Advisory Services, 2007) – 18001:2007 – especificam que o cálculo do risco deve ter em conta a probabilidade e a gravidade (severidade) potencial do dano resultante da exposição ao perigo. Assim, a avaliação dos riscos ocupacionais decorrentes de uma determinada actividade deve ter em conta a probabilidade de ocorrência da exposição a um determinado perigo/factor de risco e a severidade das consequências resultantes da exposição ao mesmo. Considerando estes aspectos, o Risco de Infecção Fúngica Cutânea através das superfícies pode ser quantificado por:

Risco de Infecção Fúngica Cutânea = Probabilidade x Gravidade

De acordo com esta definição, o risco varia na proporção directa da sua probabilidade de ocorrência e da gravidade das suas consequências.

Em relação ao critério da Gravidade, e à semelhança do estudo realizado por Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau (2002), considerou-se que a gravidade da contaminação e, consequentemente, da possível lesão, está intimamente relacionada com a espécie fúngica envolvida. A maioria dos autores diagnostica, como agentes etiológicos da *Tinea pedis* e onicomicose mais frequentes, os Dermatófitos (80 a 90 %), seguidos pelas Leveduras (5 a 17%) e, por fim, FFND (2 a 12%) (Haneke, 1991; Kemna e Elewski, 1996; Perca, Ramos e Garau, 2000). Tendo em conta esta informação apresentam-se os 3 níveis de gravidade no Quadro 7.

Quadro 7 – Níveis de gravidade

Níveis de gravidade	Fungos isolados
0. Nula	Resultado Negativo
1. Moderado	FFND e Leveduras
2. Considerável	Fungos Patogénicos (Dermatófitos)

Para o cálculo da Probabilidade foi considerado o produto entre a Frequência e a Exposição, tendo em conta que a frequência e a exposição, a um determinado factor de risco, condicionam a probabilidade da consequência vir a ocorrer, ou seja:

$$\text{Probabilidade} = \text{Frequência} \times \text{Exposição}$$

No caso da **Frequência**, esta foi estabelecida considerando a frequência de isolamento de fungos nas superfícies, devido ao facto de não existirem referenciais legais nem normativos que estabeleçam níveis quantitativos e qualitativos para a contaminação fúngica. Para o efeito, foram consideradas as etapas realizadas para o alcance dos valores máximos recomendados e admitidos para a contaminação fúngica das areias das praias, levadas a cabo pelo Laboratório de Micologia (Brandão, Silva e Alves, 2008).

No presente estudo, foram estabelecidas médias da contaminação fúngica por cada estabelecimento antes e depois da lavagem e desinfecção. Tendo em conta que foram obtidos melhores resultados antes desses procedimentos, optou-se por utilizar as médias obtidas nesse caso, de modo a que a avaliação do risco fosse a mais exigente. De salientar que, no âmbito da Saúde Ocupacional, deverá ser considerada sempre a avaliação mais exigente, garantindo desta forma a protecção dos mais susceptíveis (Macher, 1999).

Tendo em conta que o valor mínimo dos valores médios obtidos foi 2,6 UFC/m², aproximadamente 3 UFC/m², e que o valor de média obtido das médias foi 26,77 UFC/m², aproximadamente 27 UFC/m², os intervalos de frequência estabelecidos foram os apresentados no Quadro 8.

Quadro 8 – Níveis de frequência

Níveis de frequência	UFC/m ²
1. Mínima	≤ 3
2. Média	$3 > X \geq 27$
3. Elevada	> 27

Em relação à **Exposição**, foram estabelecidos intervalos para agrupar as horas semanais dispendidas na actividade profissional em causa, como se observa no Quadro 9.

Quadro 9 – Níveis de exposição

Níveis de exposição	Horas/semana
1. Mínima	< 15
2. Média	$[15 \text{ a } 30[$
3. Elevada	≥ 30

Considerando os resultados obtidos no cálculo do Risco de Infecção Fúngica Cutânea, serão posteriormente estabelecidos níveis de risco que estabeleçam a sua aceitabilidade.

Este método, que pretende estabelecer um padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies que permita definir níveis semi-quantitativos de estimação do risco de infecção fúngica dos trabalhadores de ginásios com piscinas, foi aplicado com os resultados provenientes das colheitas das superfícies nos 10 estabelecimentos que constituíram a amostra e também no estabelecimento em que se pretendia verificar se existiam diferenças significativas entre a contaminação fúngica no Verão e no Inverno.

9 – Processamento e análise dos dados

Todas as colheitas biológicas e ambientais que se realizaram foram processadas no Laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge e com a supervisão da investigadora responsável. Após a obtenção dos resultados laboratoriais, foram construídas bases de dados não só com os resultados provenientes das colheitas biológicas e da avaliação ambiental, mas também da aplicação das grelhas de observação e dos questionários preenchidos. Os dados obtidos foram tratados através do programa *Statistical Package for Social Sciences - SPSS*, versão 17.0 para Microsoft Windows da Microsoft International®, cuja licença foi disponibilizada pela Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa.

Efectuou-se análise estatística descritiva univariada e análise inferencial. Relativamente à análise estatística descritiva, esta foi aplicada para a caracterização das amostras em estudo e nos resultados provenientes das colheitas biológicas e da avaliação ambiental. Determinou-se, para as variáveis numéricas, medidas de tendência central, como a média e a mediana, e medidas de dispersão, como o desvio-padrão e a amplitude de variação com mínimo e máximo. Para as variáveis nominais e ordinais são apresentadas tabelas de distribuição de frequências com as contagens e respectivas percentagens como, por exemplo, no caso da distribuição das espécies fúngicas isoladas no ar, nas superfícies e nos trabalhadores que participaram no estudo.

Verificou-se se existiam diferenças estatisticamente significativas entre a contaminação fúngica das superfícies e a contaminação fúngica do ar e ainda na contaminação fúngica das superfícies entre antes e depois da lavagem e desinfecção das superfícies através de teste não paramétrico (*Teste de Wilcoxon*). Analisou-se a influência das variáveis ambientais monitorizadas (temperatura, humidade relativa e velocidade do ar) e do número de frequentadores na contaminação fúngica do ar e na contaminação fúngica das superfícies (com excepção da velocidade do ar) dos estabelecimentos monitorizados, através de uma análise de

regressão e de uma análise de correlação. A mesma análise foi realizada para conhecer a influência entre a contaminação fúngica do ar e a das superfícies.

Em relação à análise inferencial, realizada quase sempre com o intervalo de confiança de 95%, esta foi aplicada para conhecer a influência de factores intrínsecos e extrínsecos na infecção micológica dos trabalhadores que constituíram a amostra, tendo sido aplicado o teste *Qui-quadrado* e o teste *exacto de Fisher*. O último foi aplicado sempre que, em algumas das células, a frequência esperada foi inferior a cinco. Procedeu-se ainda ao cálculo do *Odds Ratio*, de modo a determinar a força das associações encontradas.

Para a aplicação do método para estimar o Risco de Infecção Fúngica Cutânea para os trabalhadores através das superfícies, foram, para o caso da frequência, calculadas as médias em relação ao isolamento de espécies fúngicas nas superfícies e considerados os intervalos, previamente estabelecidos, para as horas semanais de trabalho em relação aos níveis de exposição.

As etapas efectuadas relativamente à análise inferencial foram as seguintes:

1 – Análise da associação entre as variáveis independentes (obtidas através do questionário e grelha de observação aplicada durante a colheita) e variáveis eventualmente dependentes (isolamento fúngico, lesão visível, fungos isolados – Dermatófitos, Leveduras e FFND). Determinação de *Odds Ratio* de eventuais associações;

2 – Análise da associação entre as variáveis independentes (temperatura, humidade relativa, velocidade do ar, número de ocupantes) e a contaminação fúngica do ar e a das superfícies. No caso da contaminação das superfícies não foi analisada a associação com a variável velocidade do ar. Esta análise contemplou os 10 estabelecimentos e o estabelecimento monitorizado no Verão e no Inverno;

3 – Análise da associação entre a contaminação fúngica do ar e a contaminação fúngica das superfícies;

4 – Análise das diferenças entre a contaminação fúngica das superfícies e a contaminação fúngica do ar, neste caso com o intervalo de confiança de 90%;

5 - Comparação da contaminação fúngica das superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção nos 10 estabelecimentos e no estabelecimento monitorizado antes e depois da lavagem e desinfecção e no Verão e no Inverno;

Foram ainda identificados os fungos isolados comumente no ambiente de trabalho e nos trabalhadores e calculadas as respectivas frequências de isolamento.

10 – Aspectos éticos

A confidencialidade e anonimato dos resultados obtidos e a identificação dos estabelecimentos envolvidos foram assegurados, assim como a identificação dos respectivos trabalhadores, para garantia da protecção das informações fornecidas.

Foi solicitada autorização prévia por parte dos responsáveis dos estabelecimentos para a realização das avaliações ambientais e das colheitas biológicas. Apresentou-se uma sessão de sensibilização aos trabalhadores dos estabelecimentos, de modo a facilitar a sua participação no projecto.

Os questionários distribuídos apresentaram declaração de consentimento do indivíduo em participar no estudo, bem como breve descrição do estudo e respectivos objectivos. Os diagnósticos laboratoriais foram entregues em envelope fechado aos respectivos trabalhadores.

Foram também entregues relatórios técnicos sobre a contaminação fúngica do ar e das superfícies aos responsáveis técnicos de cada um dos estabelecimentos monitorizados. Nesses relatórios, além do diagnóstico da situação sobre a contaminação fúngica, foram propostas medidas preventivas e correctivas que visavam aumentar a eficácia da lavagem e desinfecção, bem como alterar práticas de manutenção dos estabelecimentos com o intuito de minimizar a proliferação fúngica.

CAPÍTULO V

Resultados

1 – Colheitas biológicas

1.1 - Distribuição das colheitas biológicas

Foram realizadas 258 colheitas biológicas aos 124 trabalhadores que participaram no estudo em diferentes locais dos pés. Das 258 colheitas, 120 (46,5%) foram realizadas às unhas, 101 (39,2%) nos interstícios dos dedos em conjunto com a planta do pé, 21 (8,1%) nos interstícios dos dedos e 16 (6,2%) em outros locais (4 no dorso do pé, 3 na planta do pé, 1 no interior do pé e 8 em outros locais do pé), como se constata na Figura 1.

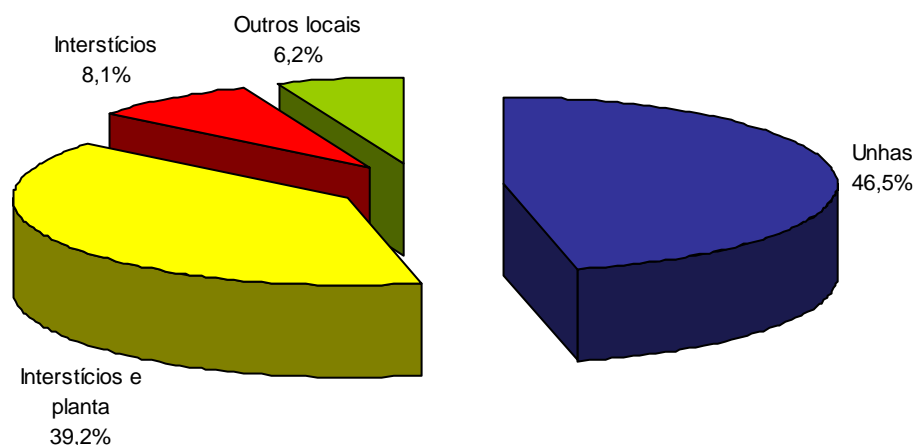


Figura 1 – Distribuição das colheitas biológicas realizadas nos diferentes locais do pé.

1.2 - Distribuição dos fungos pelo diagnóstico laboratorial

É possível classificar os fungos isolados apenas em dois grupos, designadamente fungos leveduriformes e fungos filamentosos. Do total dos 143 isolamentos, considerando apenas os dois grupos, os fungos leveduriformes apresentaram frequência de isolamento de 58,7% e os fungos filamentosos 41,3%, como se observa na Figura 2.

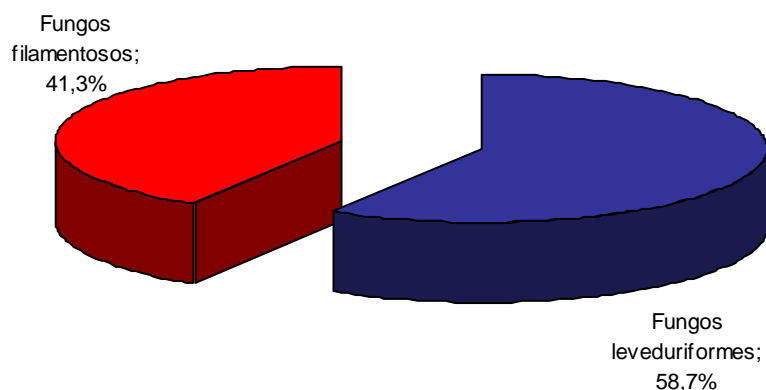


Figura 2 – Distribuição relativa das espécies fúngicas isoladas por fungos leveduriformes e fungos filamentosos.

Além desta divisão os fungos foram também agrupados em Dermatófitos, Leveduras e FFND.

1.2.1 - Dermatófitos

No grupo dos fungos Dermatófitos foram isolados 3 fungos diferentes. Das 27 vezes em que foram isoladas espécies deste grupo, em 3 foram isolados fungos do género *Trichophyton*, em que não foi possível identificar a espécie, em 15 foi isolada a espécie *T. rubrum* e em 9 a espécie *T. mentagrophytes*, como se observa na Figura 3.

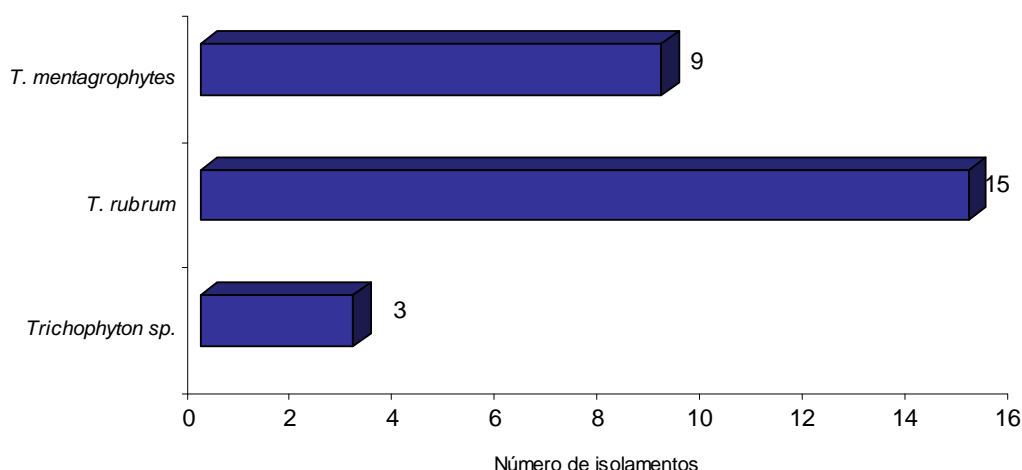


Figura 3 – Distribuição das espécies fúngicas isoladas no grupo dos Dermatófitos.

1.2.2 - Leveduras

No grupo das Leveduras, que foram isoladas 84 vezes, foram considerados todos os fungos leveduriformes isolados, designadamente: *Candida sp.*, *Candida guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *Candida rugosa*, *Candida famata*, *Candida boidinii*, *Candida menbrafaciens*, *Trichosporon sp.*, *Trichosporon mucoides*, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon inkin*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus unigutulattus* e *Rhodotorula sp.*, como se constata na Figura 4.

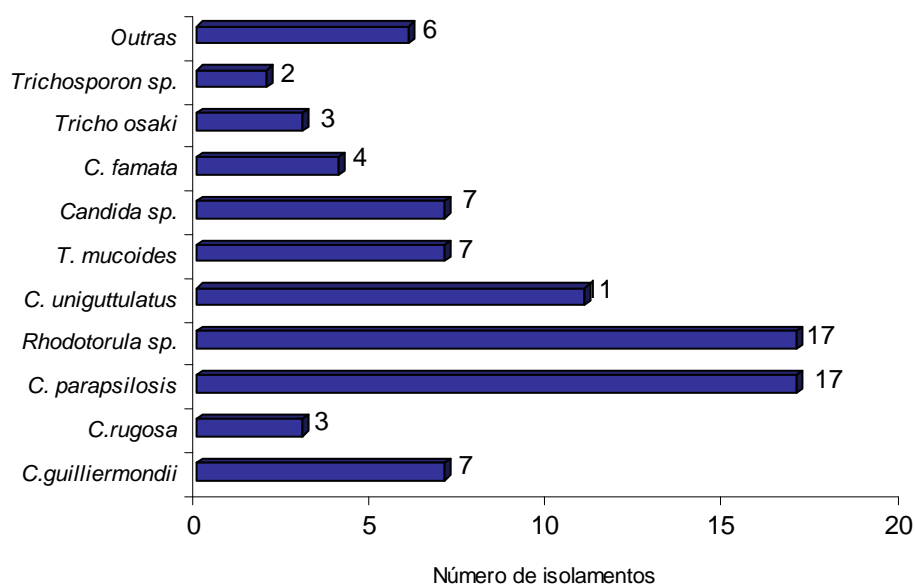


Figura 4 – Distribuição das espécies fúngicas isoladas no grupo das Leveduras.

1.2.3 - Fungos Filamentosos Não Dermatófitos

No grupo dos FFND foram incluídos todos os fungos filamentosos com excepção dos Dermatófitos, como é o caso de *Fusarium* sp., *F. oxysporum*, *Fusarium clamydosporum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Scytalidium* sp., *Chrysosporium* sp., *Beauveria* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Mucor* sp. e *Nigrospora* sp., tendo sido isolados fungos deste grupo 32 vezes, como se verifica na Figura 5.

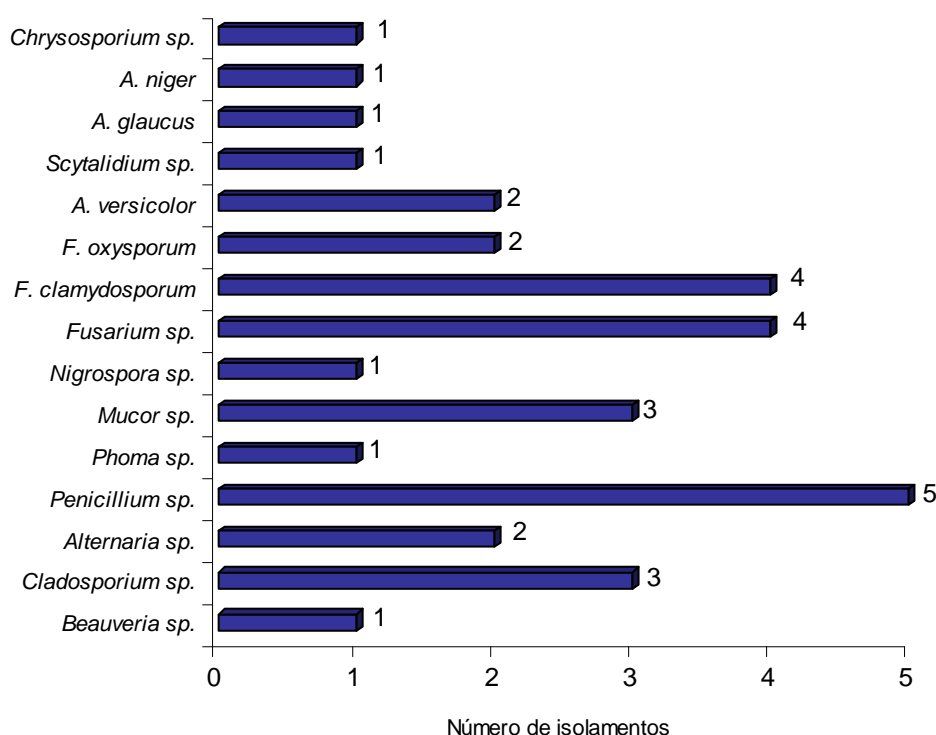


Figura 5 – Distribuição das espécies fúngicas isoladas no grupo dos FFND.

1.3 - Infecções conjuntas

As infecções conjuntas, num total de 11 casos, foram classificadas da seguinte forma:

- nos casos em que se isolaram Dermatófitos e outros fungos, os Dermatófitos foram considerados como agentes patogénicos e esses casos agrupados na categoria de Dermatófitos, perfazendo um total de 2 casos;

- nos outros 9 casos, valorizaram-se os FFND como agentes patogénicos e as Leveduras como contaminantes. Destes, 3 FFND pertenciam ao género *Fusarium* (1 *Fusarium clamydosporum*, 1 *F. oxysporum* e 1 *Fusarium* sp.), 2 FFND pertenciam ao género *Mucor*, 1 FFND pertencia ao género *Phoma*, 1 FFND ao género *Alternaria*, 1 FFND ao género *Penicillium* e 1 FFND ao género *Nigrospora*.

2 – Observação dos trabalhadores

2.1 - Actividade física antes da colheita

Através da grelha de observação foi possível conhecer o número de trabalhadores que realizaram actividade física antes da colheita biológica. Dos 124 trabalhadores em que foram realizadas colheitas, 93 (75,0%) efectuaram actividade física antes da colheita e 31 (25,0%) não realizaram actividade física antes da colheita, como se observa na Figura 6.

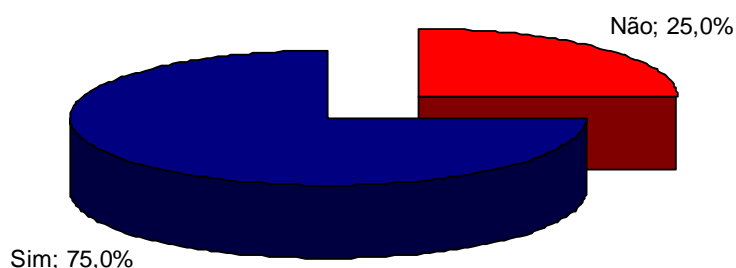


Figura 6 – Distribuição relativa da actividade física antes da colheita biológica.

2.2 - Lesão visível

Dos 124 trabalhadores que participaram no estudo, 58 (46,8%) apresentaram lesão visível, como se verifica na Figura 7.

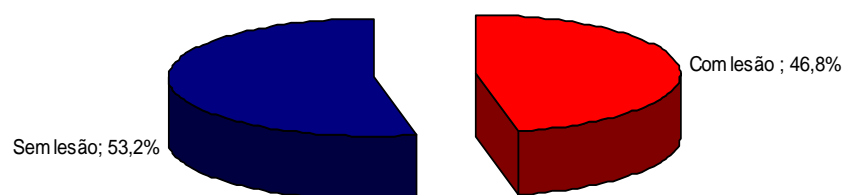


Figura 7 – Distribuição relativa das lesões visíveis.

2.3 - Localização da lesão visível

Nos 58 trabalhadores com lesão, em 24 (41,4%) a lesão localizava-se nas unhas dos pés, em 16 (27,6%) a lesão verificou-se nos interstícios dos dedos dos pés, em 9 (15,5%) observou-se nos interstícios e nas unhas dos pés, em 6 (10,3%) no dorso interior do pé, em 2 (3%) na planta e unhas e em 1 (2%) na planta e interstícios, como se observa na Figura 8.

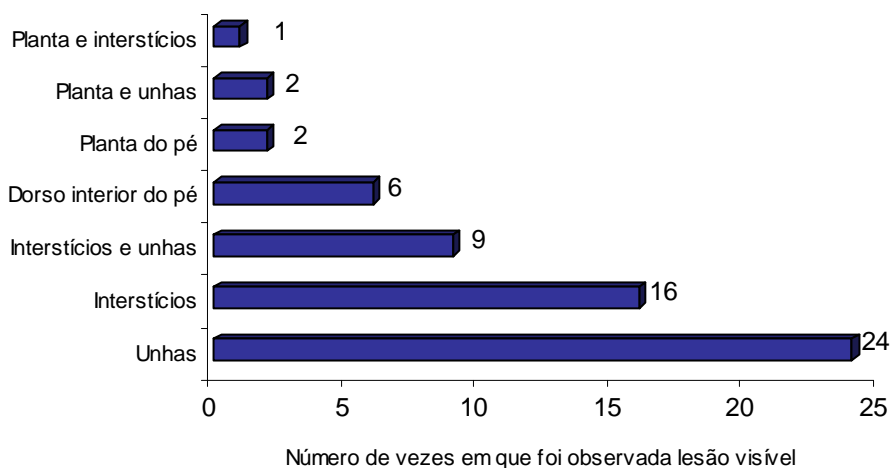


Figura 8 – Distribuição absoluta da localização das lesões.

3 - Questionários

3.1 - Amostra

Se considerarmos como população inerente ao estudo os 392 trabalhadores, verificamos que a amostra (124 trabalhadores) constituiu 31,6% da população, como se verifica na Figura 9.

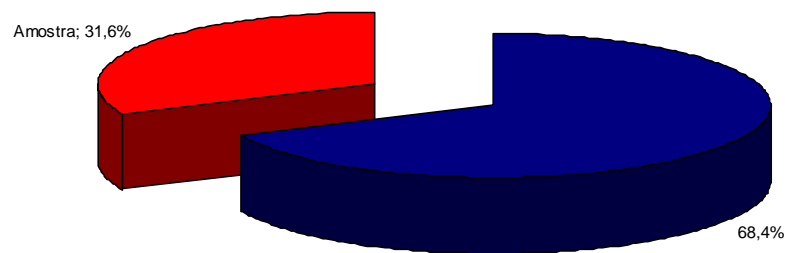


Figura 9 – Percentagem da amostra inerente ao estudo.

3.2 - Caracterização da amostra em relação ao género

A amostra, no que concerne ao género foi constituída por 75 homens (60,5%) e 49 mulheres (39,5%), como se constata na Figura 10.

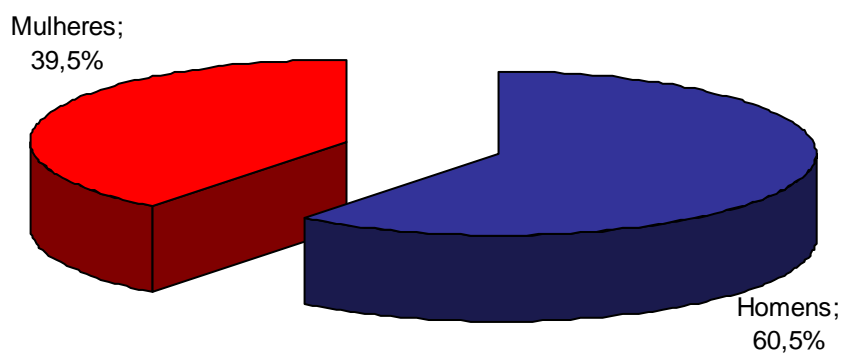


Figura 10 – Caracterização da amostra em relação ao género.

3.3 - Caracterização da amostra em relação à idade

Realizaram-se intervalos para caracterizar a amostra em relação à idade. No intervalo dos 21 aos 27 anos verificaram-se 33 (26,6%) respostas, no intervalo dos 28 aos 34 anos constatarem-se 67 (54,0%) respostas e no intervalo de igual ou superior a 35 anos verificaram-se 21 (16,9%) respostas. Dos 124 sujeitos pertencentes à amostra, 3 (2,4%) não responderam à questão sobre o ano de nascimento, como se verifica na Figura 11. A média de idade dos trabalhadores foi 30,32 anos e o desvio padrão 5,243 anos.

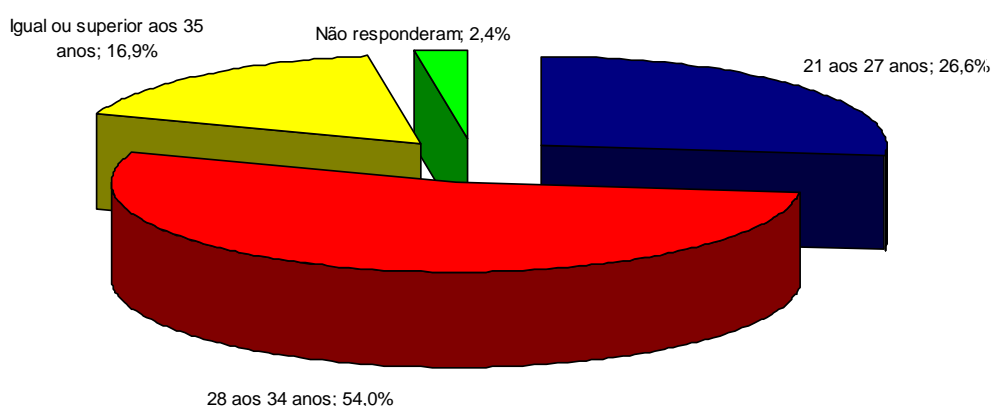


Figura 11 – Caracterização da amostra em relação à idade.

3.4 - Caracterização da amostra em relação às habilitações literárias

No que concerne às habilitações literárias, 93 (77,4%) afirmaram ter formação superior, 24 o ensino secundário concluído e 1 o ensino obrigatório, perfazendo um total de 25 (20,2%) com o ensino secundário e obrigatório, como se constata na Figura 12.

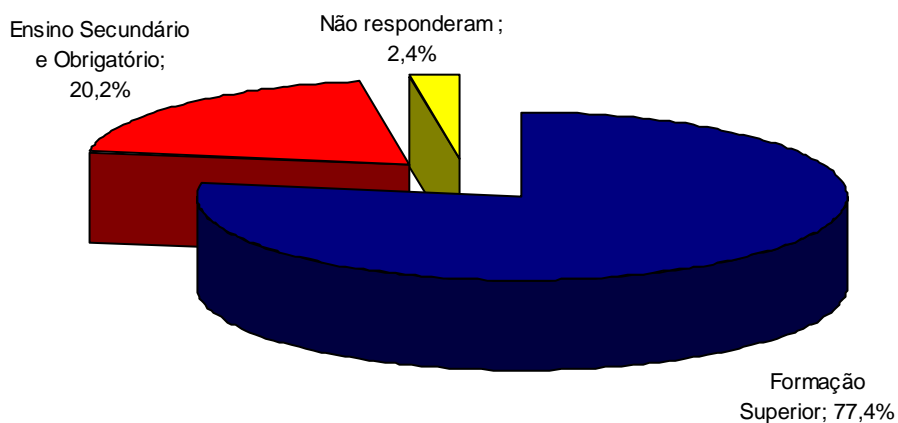


Figura 12 – Caracterização da amostra em relação às habilitações literárias.

3.5 - Percepção da lesão nos trabalhadores

Os trabalhadores foram inquiridos sobre se apresentavam deformação/espessamento das unhas dos pés ou pé de atleta nos últimos 8 dias. Quinze (12,1%) trabalhadores responderam que apresentavam deformação/espessamento das unhas dos pés, 13 (10,5%) pé de atleta e 96 (77,4%) responderam que não apresentavam nenhuma das duas doenças, como se verifica na Figura 13.

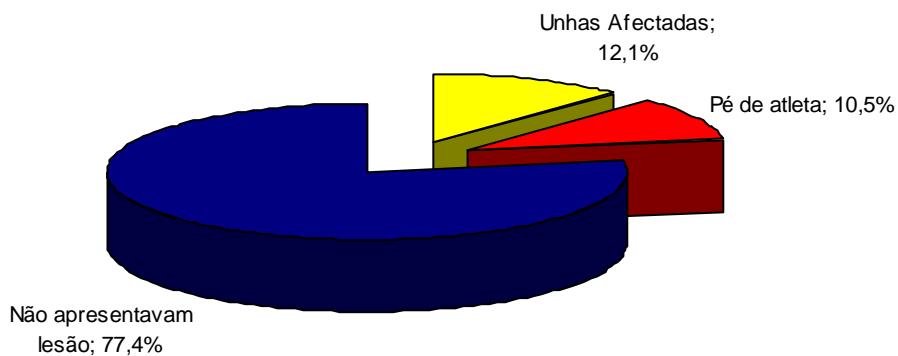


Figura 13 – Lesões dos trabalhadores que responderam afirmativamente (nos últimos 8 dias).

Na questão sobre se alguma vez na vida tinham tido deformação/espessamento das unhas dos pés ou pé de atleta, dos 124 trabalhadores 81 (65,3%) responderam afirmativamente, como se constata na Figura 14.

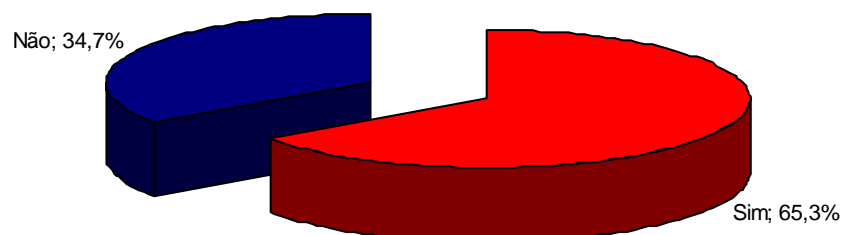


Figura 14 – Percepção das lesões dos trabalhadores que responderam afirmativamente (alguma vez na vida).

Dos 81 que responderam afirmativamente, 28 (34,6%) responderam que já tinham tido deformação/espessamento das unhas dos pés e 53 (65,4%) pé de atleta, como se observa na Figura 15.

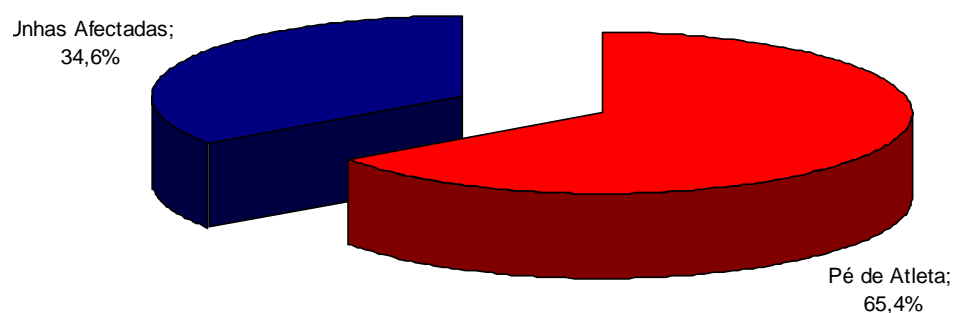


Figura 15 – Distribuição dos tipos de lesão nos 81 trabalhadores (alguma vez na vida).

3.6 - Trabalhadores que realizavam tratamento

No momento da colheita, dos 58 com lesão visível, apenas 9 (15,5%) se encontravam a fazer tratamento específico para as dermatomicoses em causa, como se verifica na Figura 16.

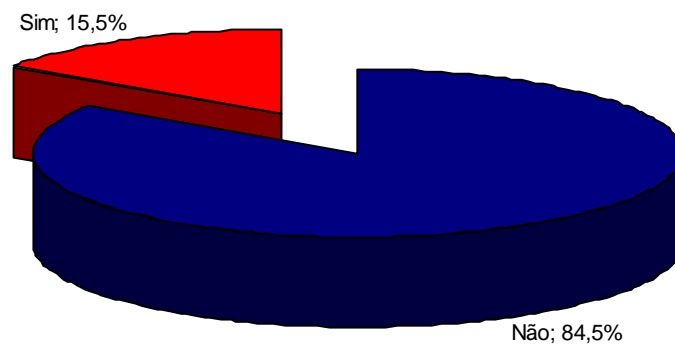


Figura 16 – Distribuição relativa dos trabalhadores com lesão que realizavam tratamento.

3.7 - Trabalhadores com animal de estimação

Dos 124 sujeitos, 56 (45,2%) possuíam animal de estimação (cão, gato, aves, coelhos e roedores), como se constata na Figura 17.

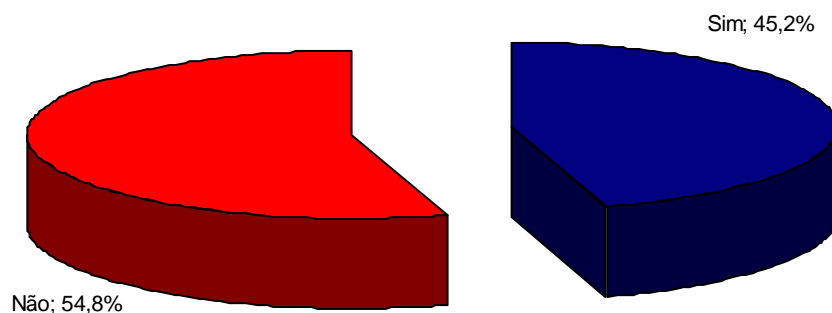


Figura 17 – Distribuição relativa dos trabalhadores quanto a possuírem animal de estimação.

3.8 - Características da actividade profissional

Dos 124 trabalhadores que constituíram a amostra, 90 (72,5%) realizavam mais do que uma actividade profissional, como se verifica na Figura 18.

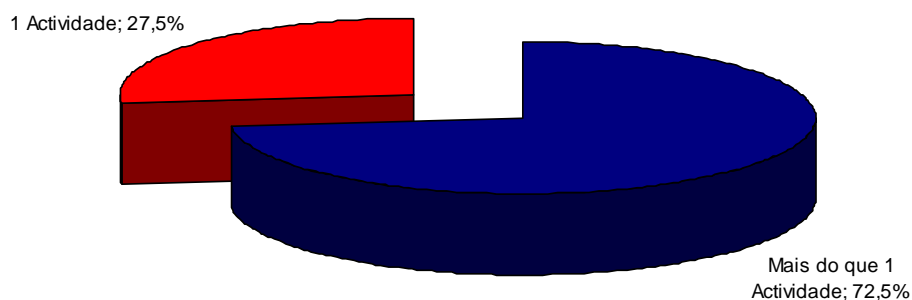


Figura 18 – Distribuição relativa dos trabalhadores que realizam uma ou mais do que uma actividade.

Foram registadas as actividades profissionais com maior frequência, nomeadamente: *personal trainer* no ginásio com 103 indivíduos (83,1%) a exercerem esta actividade, 48 (38,7%) a desempenharem actividades como vigilante no ginásio e 29 (23,4%) como professor de natação, como se observa na Figura 19.

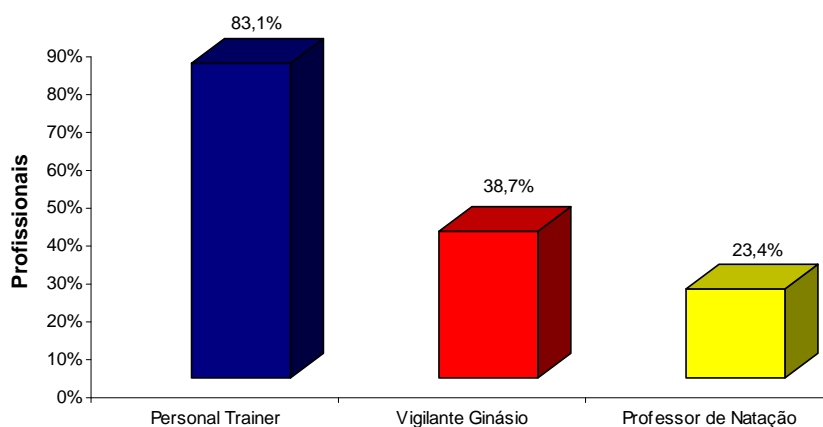


Figura 19 – Actividades profissionais mais frequentes.

Em relação às horas trabalhadas por semana, 30 (24,2%) sujeitos pertenciam ao intervalo de menos de 15 horas semanais, 29 (23,4%) sujeitos ao intervalo entre as 15 e as 29 horas semanais e 56 (23,4%) sujeitos trabalhavam 30 ou mais horas semanais, como se constata na Figura 20.

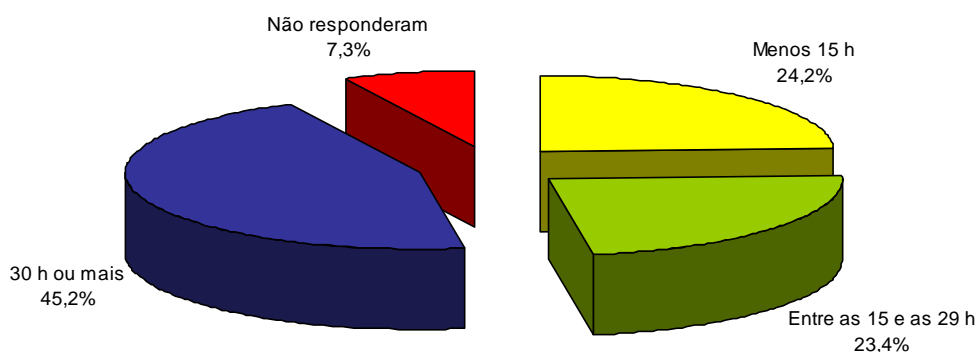


Figura 20 – Distribuição dos trabalhadores pelas horas trabalhadas por semana.

Os trabalhadores foram inquiridos sobre o tempo de desempenho da actividade. Vinte e nove (23,4%) inquiridos desenvolviam esta actividade há menos de 20 meses, 21 (16,9%) desenvolviam a actividade entre 20 e 39 meses e 55 (44,4%) desenvolviam a actividade há mais de 40 meses. Dezanove (15,3%) dos trabalhadores não responderam a esta questão, como se observa na Figura 21.

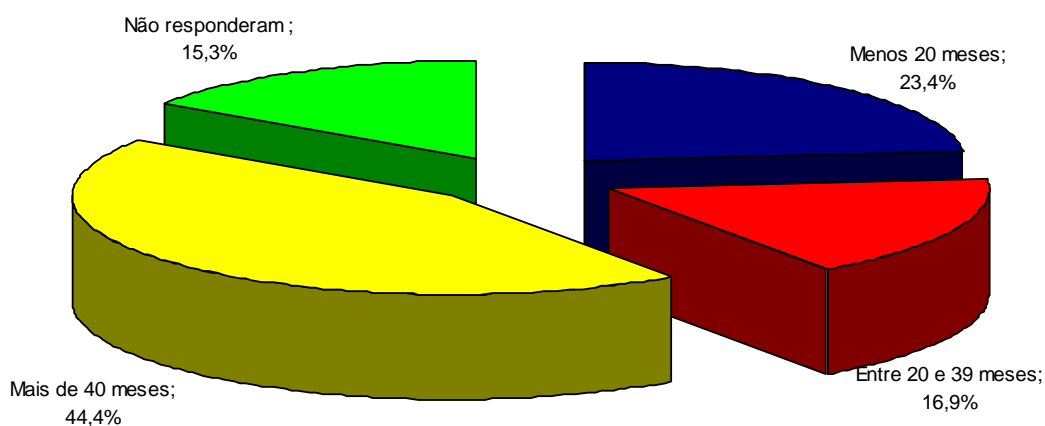


Figura 21 – Tempo que os trabalhadores desenvolvem a actividade.

Foram definidos dois grupos de trabalhadores considerando o calçado utilizado durante a sua actividade profissional. Um grupo de trabalhadores que realizava todas as actividades calçados (ténis) e outro grupo em que algumas das actividades, ou todas, são realizadas com os pés descalços (mistos). Assim, neste último grupo incluímos também aqueles que realizam os dois tipos de actividades. No primeiro grupo, actividades realizadas sempre calçados, foram incluídos 71 (57,3%) sujeitos e no segundo grupo, em que algumas actividades ou todas eram realizadas com os pés descalços, foram considerados 50 (40,3%) indivíduos. Em 3 (2,4%) dos trabalhadores não foi possível conhecer as actividades desenvolvidas, como se verifica na Figura 22.

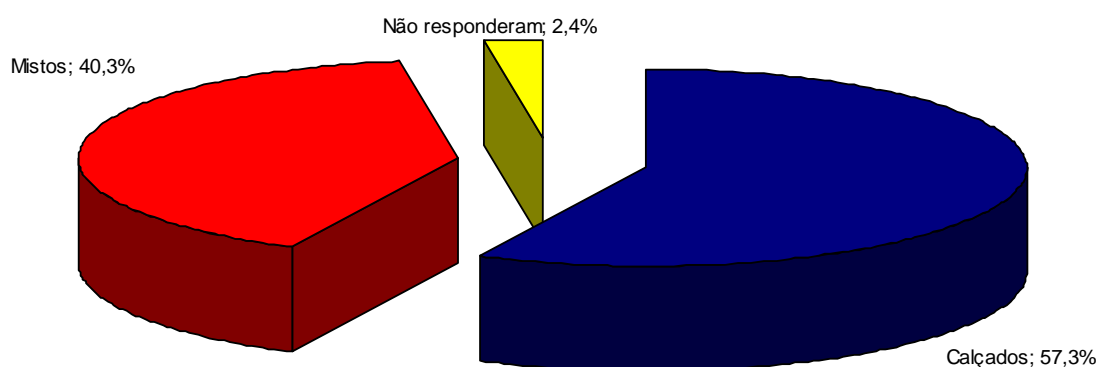


Figura 22 – Tipo de actividades profissionais desenvolvidas pelos trabalhadores considerando o calçado.

Em relação aos locais onde os trabalhadores andavam descalços durante as actividades decorrentes do seu exercício profissional, os locais mais indicados foram junto aos vestiários (26 – 21,0%) e junto à piscina (25 – 20,2%). Além desses locais, apenas 18 (14,5%) indivíduos responderam que andam descalços no estúdio de treino aquando da realização de algumas actividades desportivas (*yoga*, *body balance*, *pilates*, cuja prática se realiza descalço), 7 (5,6%) indivíduos na cabine de duche durante o banho, 6 (4,8%) no *jacuzzi* e 8 (6,5%) na sauna e banho turco, como se constata na Figura 23.

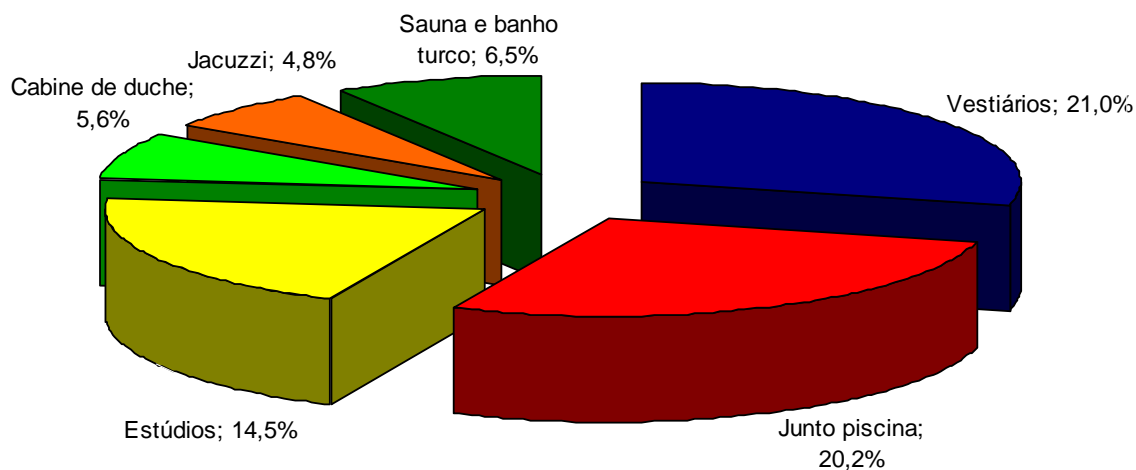


Figura 23 – Locais onde os trabalhadores andam descalços.

3.9 - Características das actividades de lazer

Dos 124 trabalhadores que constituíram a amostra, 114 (91,4%) realizavam actividade física além da profissional, sendo esta bastante diversificada, nomeadamente: *Cardiofitness* e Musculação (29 – 23,4%), Futsal/Futebol (16 – 12,9%), Atletismo (15 – 12,1%), Musculação (14 – 11,3%) e Ciclismo/BTT (5 – 4,0%), como se observa na Figura 24.

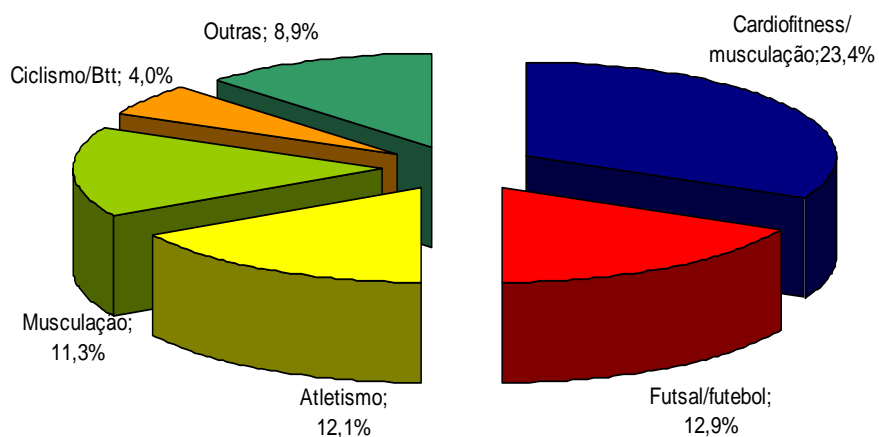


Figura 24 – Actividade física além da profissional.

Além da actividade física mencionada anteriormente, 61 (49,2%) dos 124 trabalhadores ainda frequentavam piscinas nas suas horas livres, como se verifica na Figura 25.

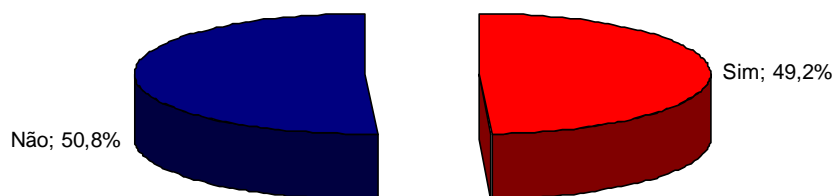


Figura 25 – Frequência de piscinas nas horas livres.

4 – Avaliação ambiental

4.1 - Variáveis ambientais

Foram realizadas 50 medições de temperatura, humidade relativa e velocidade do ar em 10 estabelecimentos. Destas 50, 10 foram realizadas no exterior, junto de cada estabelecimento.

4.1.1 - Temperatura

Relativamente à temperatura, o máximo valor obtido no interior dos estabelecimentos foi de 28,4° C, tendo sido verificado na nave de uma das piscinas. O mínimo valor obtido no interior dos estabelecimentos foi de 18,5° C, tendo sido registado num dos estúdios. No exterior, o mínimo verificado foi de 13,7° C e o máximo foi de 23,8° C. A média da temperatura obtida no interior foi de 23,4° C e no exterior foi de 18,3° C.

4.1.2 - Humidade relativa

Em relação à humidade relativa, o máximo valor obtido no interior foi de 95,2% na nave de uma das piscinas e o valor mínimo foi de 28,8% num dos balneários e vestiários femininos.

No exterior, o máximo valor obtido foi de 89,1% e o mínimo obtido foi de 54,4%. No que concerne às médias: no interior foi de 59,9% e no exterior foi de 72,6%.

4.1.3 - Velocidade do Ar

A velocidade do ar apresentou o valor máximo no interior de 0,47 m/s numa nave de uma das piscinas e um mínimo de 0,0 m/s num dos balneários e vestiários masculinos. No exterior, o máximo registado foi de 1,4 m/s e o mínimo foi de 0,04 m/s. Em relação às médias registadas, no interior foi de 0,1 m/s e no exterior foi de 0,4 m/s, conforme apresentado no Quadro 10.

Quadro 10 – Dados das variáveis ambientais no interior dos estabelecimentos

Parâmetros Ambientais	Número de Medições	Mínimo - Máximo
Temperatura	40	18,52 °C - 28,4 °C
Humidade relativa	40	28,8 % - 95,2%
Velocidade do ar	40	0,0 m/s - 0,47 m/s

Considerando os requisitos legais existentes para os parâmetros ambientais, nomeadamente a Directiva CNQ 23/93, o Decreto-Lei nº 243/86, de 20 de Agosto e o Decreto-Lei nº 79/2006, de 4 de Abril, verificou-se, que dos 40 espaços interiores em que as variáveis ambientais foram monitorizadas, 15 (37,5%) locais apresentavam-se não conformes em relação à temperatura, 7 (17,5%) em relação à humidade relativa e 2 (5%) em relação à velocidade do ar, como se verifica na Figura 26.

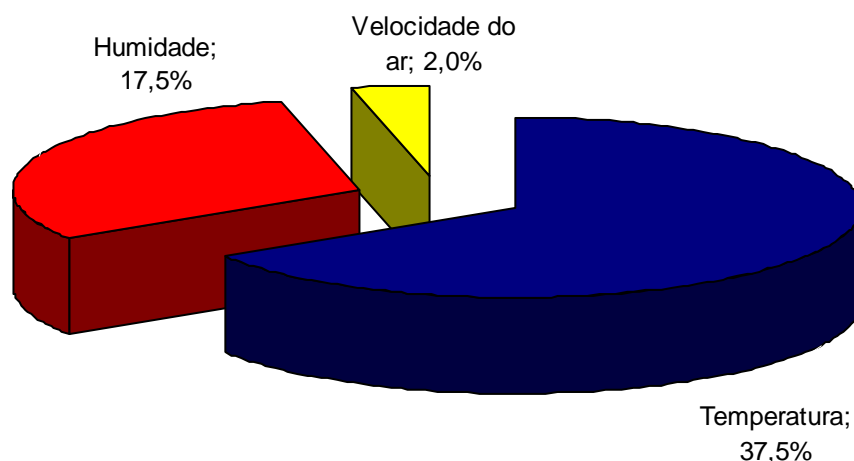


Figura 26 – Distribuição relativa dos locais não conformes com os requisitos legais em relação às variáveis ambientais medidas.

Também se verificou que dos 40 locais monitorizados, 19 (47,5%) apresentaram humidade relativa superior a 60%, sendo este valor indicado como máximo (ASHRAE, 1992; Environmental Protection Agency, 2001; Sterling, Arundel e Sterling, 1985), de modo a evitar a proliferação fúngica em ambientes interiores.

4.2 - Contaminação fúngica do ar

Foram realizadas 50 colheitas de ar nos 10 estabelecimentos, sendo que em cada estabelecimento foram efectuadas 4 colheitas no interior e 1 no exterior. Destas colheitas foram identificados 25 fungos filamentosos. Entre estes, 6 géneros foram isolados mais frequentemente, nomeadamente *Cladosporium* (36,6%), *Penicillium* (19,0%), *Aspergillus* (10,2%), *Mucor* (7%), *Phoma* e *Chrysosporium* (3,3%). Entre o género *Aspergillus*, foram identificadas as espécies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus restrictus* e *Aspergillus sydowii*. Além dos géneros anteriormente enunciados, foram ainda identificados *Fusarium*, *Chaetomium*, *Acremonium*, *Arthium*, *Scytalidium*, *Bipolaris*, *Phialophora*, *Ulocladium*, *Paecilomyces* e *Ochroconis*. Relativamente aos fungos leveduriformes, foi isolado o género *Rhodotorula* com a frequência de isolamento de 70% e as espécies *Trichosporon mucoides* e *Cryptococcus unigutulatus* apresentando ambas frequência de isolamento de 10%, como se pode verificar no Quadro 11.

Quadro 11 – Fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência no ar interior dos 10 estabelecimentos monitorizados

Fungos filamentosos	Frequência (%)	Mínimo - Máximo (UFC/m³)
<i>Cladosporium</i> sp.	36,6	5 – 65
<i>Penicillium</i> sp.	19,0	5 – 25
<i>Aspergillus</i> sp.	10,2	5 – 30
<i>Mucor</i> sp.	7,0	5 – 40
<i>Phoma</i> sp.	3,3	5 – 30
<i>Chrysosporium</i> sp.	3,3	5 – 5
Outros	20,3	—
Fungos leveduriformes	Frequência (%)	Mínimo - Máximo (UFC/m³)
<i>Rhodotorula</i> sp.	70,0	5 - 15
<i>Trichosporon mucoides</i>	10,0	5
<i>Cryptococcus unigutulatus</i>	10,0	5
Outros	10,0	—

4.2.1 - Distribuição dos fungos pelos locais monitorizados

No que concerne aos géneros de fungos filamentosos mais frequentemente isolados nos diferentes espaços monitorizados nos ginásios com piscina, nomeadamente nos balneários e vestiários masculinos e femininos, na nave da piscina e no estúdio, os três mais frequentes foram *Cladosporium* (33,3 – 56,25%), *Penicillium* (14,3 – 29,6%) e *Aspergillus* (6,86 – 15,8%). Além destes, *Mucor* sp. foi também isolado nos balneários e vestiários masculinos com alguma expressão (8,8%). Em relação aos fungos leveduriformes, estes apresentaram-se com pouca expressão nas colheitas de ar. No exterior, os 3 géneros de fungos filamentosos com maior frequência de isolamento foram também *Cladosporium* (50%), *Penicillium* (19,1%) e *Aspergillus* (6,9%), como se pode observar no Quadro 12.

Quadro 12 – Gêneros predominantes de fungos filamentosos e leveduriformes isolados no ar dos dez estabelecimentos monitorizados

Local	Fungos filamentosos			Fungos leveduriformes		
	Total UFC/m ³	Gêneros	Frequência (%)	Total UFC/m ³	Gêneros	Frequência (%)
Balneários e vestiários femininos	315	<i>Cladosporium</i>	33,3	40	<i>Rhodotorula</i>	87,5
		<i>Penicillium</i>	20,6			
		<i>Aspergillus</i>	15,8			
Balneários e vestiários masculinos	455	<i>Cladosporium</i>	34,1	20	<i>Rhodotorula</i>	50,0
		<i>Penicillium</i>	14,3			
		<i>Mucor</i>	8,8			
Nave da piscina	135	<i>Cladosporium</i>	40,7	5	<i>Rhodotorula</i>	100,0
		<i>Penicillium</i>	29,6			
		<i>Aspergillus</i>	7,4			
Estúdio	160	<i>Cladosporium</i>	56,3	0	-	-
		<i>Penicillium</i>	21,9			
		<i>Aspergillus</i>	9,3			
Local de referência (exterior)	1020	<i>Cladosporium</i>	50,0	10	<i>Trichosporon</i>	100,0
		<i>Penicillium</i>	19,1			
		<i>Aspergillus</i>	6,9			

4.2.2 - Comparação da contaminação fúngica do ar no interior com o exterior

Relativamente à comparação das concentrações encontradas no ambiente interior com o ambiente exterior, neste estudo, apenas nos balneários e vestiários masculinos do ginásio com piscina nº 2 e nos balneários e vestiários femininos do ginásio com piscina nº 6, a avaliação realizada no interior apresentou maior número de UFC/m³ do que no exterior. Nas restantes avaliações, todos os espaços interiores apresentaram menor número de UFC/m³ do que no exterior, como se pode verificar na Figura 27. No entanto, todos os 10 estabelecimentos apresentaram, em um ou mais espaços, fungos diferentes dos isolados no exterior. Alguns dos fungos filamentosos apenas isolados no interior foram *Scytalidium* sp., *Paecilomyces* sp., *Phialophora* sp., *Bipolaris* sp., *Aspergillus sydowii*, *Ochroconis* sp. e, no caso dos fungos leveduriformes, foram *Cryptococcus unigutulatus* e *Rhodotorula* sp.

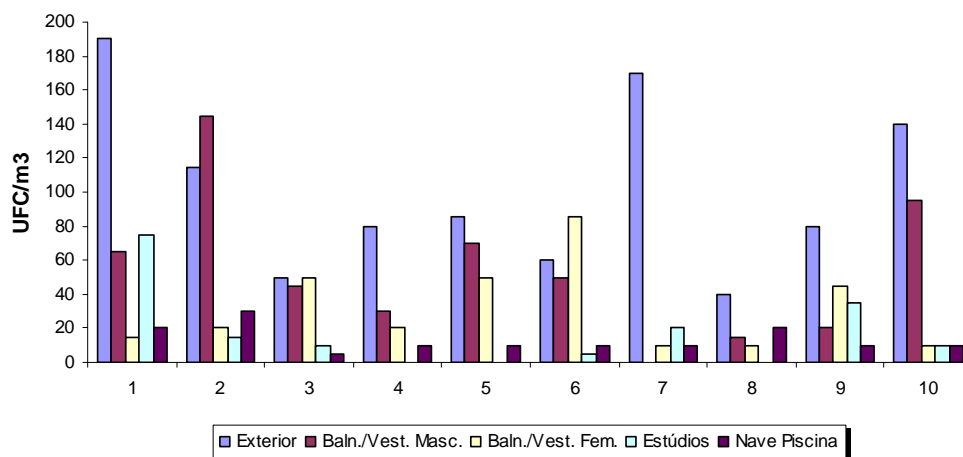


Figura 27 – Fungos filamentosos isolados no ar interior e exterior de cada espaço monitorizado dos 10 estabelecimentos.

4.3 - Contaminação fúngica das superfícies

4.3.1 - Resultados provenientes dos 10 estabelecimentos monitorizados

Em relação aos fungos filamentosos, foram identificados 37 fungos diferentes. Antes da lavagem e desinfecção (ALD) das superfícies isolaram-se 29 fungos diferentes. Entre as espécies do género *Fusarium*, a mais frequente foi *F. oxysporum* e entre as espécies do género *Aspergillus* a mais frequente foi *Aspergillus versicolor*. Relativamente aos fungos Dermatófitos, apenas foi identificada a espécie *T. mentagrophytes*.

Depois da lavagem e desinfecção (DLD) das superfícies foram identificados 25 fungos diferentes. Entre as espécies do género *Fusarium*, a mais frequente foi também *F. oxysporum*. No que concerne aos fungos Dermatófitos, além da espécie *T. mentagrophytes*, foi também identificada a espécie *T. rubrum*.

Relativamente aos fungos leveduriformes, foram identificados 12 fungos diferentes. A espécie *Trichosporon mucoides* foi a mais frequente antes e depois da lavagem e desinfecção. Dez fungos leveduriformes diferentes foram identificados ALD, nomeadamente, *Trichosporon mucoides*, *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., *C. parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus humicola*, *Cryptococcus curvatus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus albidus* e *Cryptococcus uniguttulatus*. Depois da lavagem e desinfecção foram identificados 11 fungos leveduriformes diferentes, identificando-se, além dos presentes ALD (com excepção da espécie *Cryptococcus curvatus*) *Candida famata* e *Cryptococcus neoformans*, como se pode observar no Quadro nº 13.

Os géneros de fungos filamentosos mais frequentemente isolados, antes e depois da lavagem e desinfecção das superfícies, foram *Fusarium*, *Penicillium* e *Scytalidium*. Em relação aos fungos leveduriformes, *Cryptococcus* foi o género mais frequente ALD e DLD foi o género *Candida*, como se apresenta também no Quadro 13.

Quadro 13 – Géneros de fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência nas superfícies dos 10 estabelecimentos monitorizados

Fungos filamentosos	ALD Frequência (%)	DLD Frequência (%)
<i>Fusarium</i>	19,1	17,2
<i>Penicillium</i>	11,5	16,9
<i>Scytalidium</i>	11,5	13,3
<i>Phoma</i>	10,7	10,3
<i>Cladosporium</i>	8,4	3,3
<i>Aspergillus</i>	6,1	4,2
<i>Trichophyton</i>	2,0	1,1
Outros	30,7	33,7
Fungos leveduriformes	ALD Frequência (%)	DLD Frequência (%)
<i>Cryptococcus</i>	40,6	7,8
<i>Candida</i>	25,1	49,3
<i>Trichosporon</i>	21,7	37,1
<i>Rhodotorula</i>	12,6	5,8

4.3.2 - Resultados provenientes do estabelecimento monitorizado no Verão e no Inverno

4.3.2.1 - Verão

Em relação aos fungos filamentosos foram identificados, antes e depois da lavagem e desinfecção, 22 fungos diferentes. Antes da lavagem e desinfecção das superfícies isolaram-se 17 fungos diferentes. Entre as espécies do género *Fusarium*, a mais frequente foi *Fusarium verticilloides* e, entre o género *Aspergillus*, *Aspergillus niger* foi a única espécie isolada. Relativamente aos fungos Dermatófitos apenas foi identificada a espécie *T. mentagrophytes*.

Depois da lavagem e desinfecção das superfícies foram identificados 13 fungos diferentes. Foram isoladas espécies do género *Fusarium*, designadamente *F. oxysporum*,

Fusarium dimerum, *Fusarium incarnatum* e *F. solani* e, entre o género *Aspergillus*, foram identificadas as espécies *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus versicolor*. Não foram isolados fungos Dermatófitos.

Relativamente aos fungos leveduriformes foram identificados 10 fungos diferentes. *Candida guilliermondii* foi a espécie mais frequente ALD e, depois desses procedimentos, foi a espécie *Trichosporon mucoides*. Dez fungos diferentes foram identificados ALD, nomeadamente, *Trichosporon mucoides*, *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., *C. parapsilosis*, *Candida famata*, *Candida rugosa*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus* sp., *Cryptococcus humicola* e *Cryptococcus albidus*. Depois da lavagem e desinfecção foram identificados 9 fungos diferentes, identificando-se todos os presentes ALD, com excepção de *Cryptococcus* sp. No Quadro 14 apresentam-se os géneros de fungos filamentosos e leveduriformes com maior frequência de isolamento no Verão.

Quadro 14 – Géneros de fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência nas superfícies no Verão

Fungos filamentosos	ALD Frequência (%)	DLD Frequência (%)
<i>Penicillium</i>	23,4	6,8
<i>Fusarium</i>	19,5	9,2
<i>Acremonium</i>	18,8	36,1
<i>Exophiala</i>	9,4	0,4
<i>Stachybotrys</i>	6,3	–
<i>Verticillium</i>	6,3	–
<i>Trichophyton</i>	0,8	–
<i>Geotrichum</i>	0,8	36,5
Outros	14,7	11,0
Fungos leveduriformes	ALD Frequência (%)	DLD Frequência (%)
<i>Candida</i>	61,5	25,7
<i>Cryptococcus</i>	18,1	26,9
<i>Trichosporon</i>	13,3	43,6
<i>Rhodotorula</i>	7,1	3,8

4.3.2.2 - Inverno

Em relação aos fungos filamentosos foram identificados, antes e depois da lavagem e desinfecção, 20 fungos diferentes. Antes da lavagem e desinfecção das superfícies isolaram-se

18 fungos diferentes. Entre as espécies do género *Fusarium*, a mais frequente foi *Fusarium verticilloides* e, entre as espécies do género *Aspergillus*, a mais frequente foi *Aspergillus glaucus*. Relativamente aos fungos Dermatófitos, apenas foi identificada a espécie *Trichophyton tonsurans*.

Depois da lavagem e desinfecção das superfícies foram identificados 11 fungos diferentes. O género mais frequente foi *Phoma*, tendo sido isoladas espécies do género *Fusarium*, designadamente *F. oxysporum* e *F. solani*. Não foram isolados fungos Dermatófitos.

Relativamente aos fungos leveduriformes foram identificados 10 fungos diferentes. *Candida guilliermondii* foi a espécie mais frequente ALD e, depois desses procedimentos, foi a espécie *Candida famata*. Nove fungos diferentes foram identificados ALD, nomeadamente, *Trichosporon mucoides*, *Trichosporon asahii*, *Rhodotorula* sp., *Cândida* sp., *C. parapsilosis*, *Candida famata*, *Candida rugosa*, *Candida guilliermondii* e *Cryptococcus humicola*. Depois da lavagem e desinfecção foram identificados 7 fungos diferentes, identificando-se, além dos presentes ALD (com excepção de *Cryptococcus humicola*, *Candida rugosa* e *Trichosporon asahii*), *Cryptococcus curvatus*. No Quadro 15 apresentam-se os géneros de fungos filamentosos e leveduriformes com maior frequência de isolamento no Inverno.

Quadro 15 – Géneros de fungos filamentosos e leveduriformes isolados com maior frequência nas superfícies no Inverno

Fungos filamentosos	ALD Frequência (%)	DLD Frequência (%)
<i>Fusarium</i>	41,4	1,0
<i>Penicillium</i>	19,2	3,7
<i>Aspergillus</i>	10,1	—
<i>Trichophyton</i>	4,0	—
<i>Stachybotrys</i>	4,0	1,2
<i>Phoma</i>	3,0	92,0
Outros	18,3	2,1
Fungos leveduriformes	ALD Frequência (%)	DLD Frequência (%)
<i>Candida</i>	89,6	64,2
<i>Cryptococcus</i>	4,5	0,1
<i>Rhodotorula</i>	5,5	4,2
<i>Trichosporon</i>	0,5	31,5

5 – Estudo da associação entre variáveis

5.1 - Actividade física antes da colheita e isolamento fúngico

Através da distribuição das frequências foi possível verificar que os trabalhadores que realizavam actividade física antes da colheita apresentavam maior frequência de presença fúngica (77,4%) do que os que não realizavam actividade física antes da colheita (64,5%). Contudo, constatou-se que não existe associação significativa ($p=0,155$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 16 e na Figura 28.

Quadro 16 – Actividade física antes da colheita e isolamento fúngico

		Isolamento Fúngico			
		Não	Sim	Total	
Actividade física antes da colheita	Não	n	11	20	31
		%	35,5%	64,5%	100,0%
	Sim	n	21	72	93
		%	22,6%	77,4%	100,0%
	Total	n	32	92	124
		%	25,8%	74,2%	100,0%

$p = 0,155$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

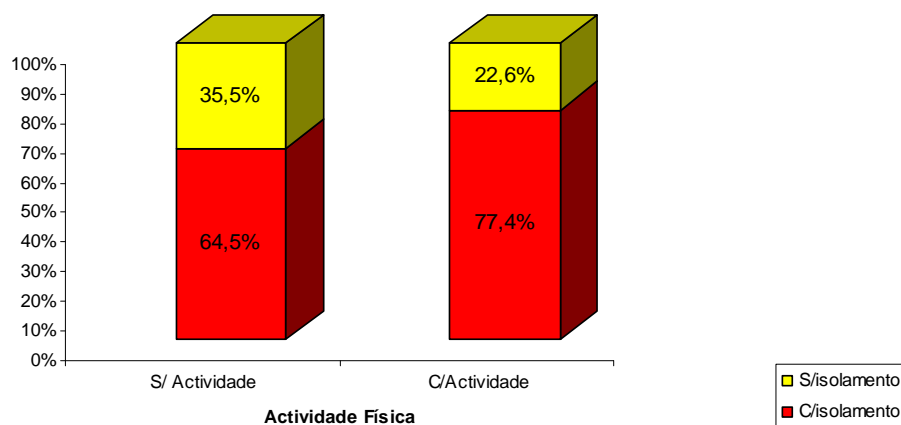


Figura 28 – Actividade física antes da colheita e isolamento fúngico.

5.2 - Lesão visível distribuída pelo género

Através da distribuição das frequências verificou-se que o género masculino apresentou maior frequência de lesão (52,0%) do que o género feminino (38,8%). Todavia, não existe associação significativa ($p=0,149$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 17 e na Figura 29.

Quadro 17 – Lesão visível distribuída pelo género

			Lesão		
			Não	Sim	Total
Género	Homens	n	36	39	75
		%	48,0%	52,0%	100,0%
	Mulheres	n	30	19	49
		%	61,2%	38,8%	100,0%
	Total	n	66	58	124
		%	53,2%	46,8%	100,0%

$p = 0,149$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

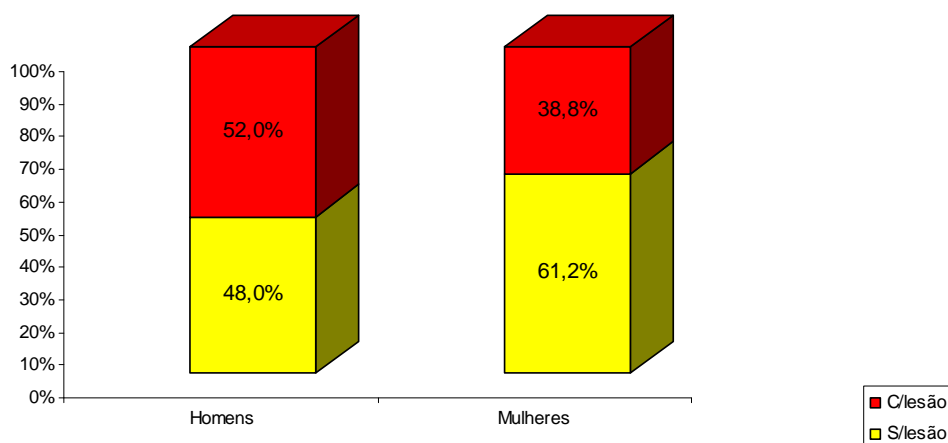


Figura 29 – Lesão visível distribuída pelo género.

5.2.1 - Lesão visível e género com tempo de exposição

Pretendeu-se saber qual a predisposição para ter lesão, consoante o género, tempo de profissão e a associação tempo de profissão e género. Para tal, foi utilizado o modelo de regressão logística binária considerando como variável dependente a lesão (Não/Sim) e como

variáveis dependentes ou regressoras o género, tempo de profissão (em meses) e a associação entre género e tempo de profissão (esta última, indica a predisposição conjunta das duas variáveis).

Constatou-se que nenhum dos *Odds Ratio* é significativo, verificando-se não existir qualquer predisposição para apresentar lesão relativamente ao tempo de exposição e em relação à associação entre género e tempo de exposição (*Odds Ratio* muito próximo de 1). Quanto ao género verifica-se, apesar de não ser significativo, que as mulheres apresentam maior predisposição para não apresentar lesão.

5.3 - Género e isolamento fúngico

Mediante a análise da distribuição de frequências, verificou-se que os homens apresentavam maior frequência de isolamento fúngico (78,7%) do que as mulheres (67,3%). Contudo, constatou-se que não existe associação significativa ($p=0,159$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 18 e na Figura 30.

Quadro 18 – Género e isolamento fúngico

			Isolamento Fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Género	Homens	n	16	59	75
		%	21,3%	78,7%	100,0%
	Mulheres	n	16	33	49
		%	32,7%	67,3%	100,0%
	Total	n	32	92	124
		%	25,8%	74,2%	100,0%

$p = 0,159$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

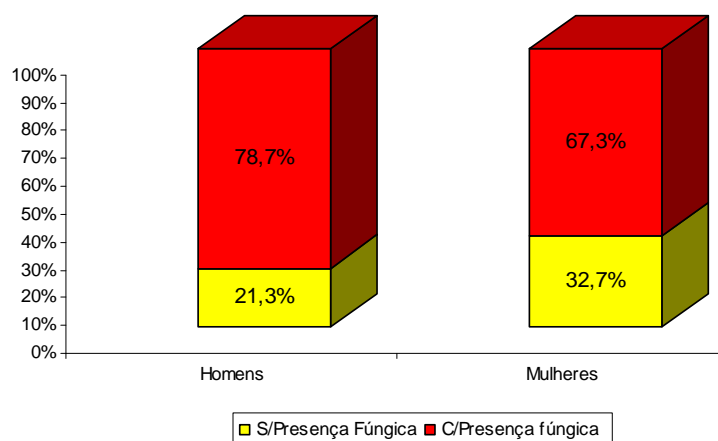


Figura 30 – Gênero e isolamento fúngico.

5.4 - Gênero e isolamento de Dermatófitos

Pela análise da distribuição de frequências verificou-se que existe uma maior tendência para os Dermatófitos serem isolados no gênero masculino (21,3%) do que no gênero feminino (15,3%) e constatou-se que existe associação significativa ($p=0,022$), como se pode observar no Quadro 19 e na Figura 31.

Quadro 19 – Gênero e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Gênero	Homens	n	59	16	75
		%	78,7%	21,3%	100,0%
	Mulheres	n	46	3	49
		%	93,9%	6,1%	100,0%
	Total	n	105	19	124
		%	84,7%	15,3%	100,0%

$p = 0,022$ (teste Qui-Quadrado) (significativa)

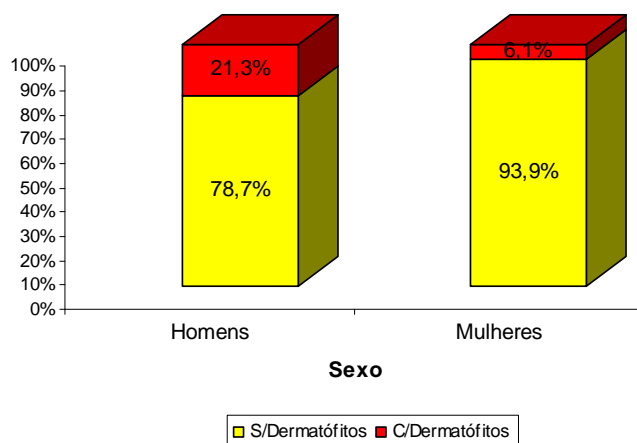


Figura 31 – Gênero e isolamento de Dermatofitos.

Aplicando o *Odds ratio* como medida da força da associação, verificamos que os homens têm, aproximadamente, 4 vezes mais predisposição para a presença de Dermatofitos.

$$\left(\hat{OR} = 3,653; I.C._{95\%} (1,278; 10,439) \right)$$

5.5 - Gênero e isolamento de Leveduras

Pela análise da distribuição de frequências verificou-se que existe uma maior tendência para as Leveduras serem mais isoladas no gênero masculino (36,9%) do que no gênero feminino (24,1%) e constatou-se que não existe associação significativa ($p=0,742$), como se pode observar no Quadro 20 e na Figura 32.

Quadro 20 – Gênero e isolamento de Leveduras

			Leveduras		
			Ausente	Presente	Total
Gênero	Homens	n	39	36	75
		%	52,0	48,0	100
	Mulheres	n	24	25	49
		%	49,0	51	100
	Total	n	63	61	124
		%	50,8	49,2	100,0

$p = 0,742$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

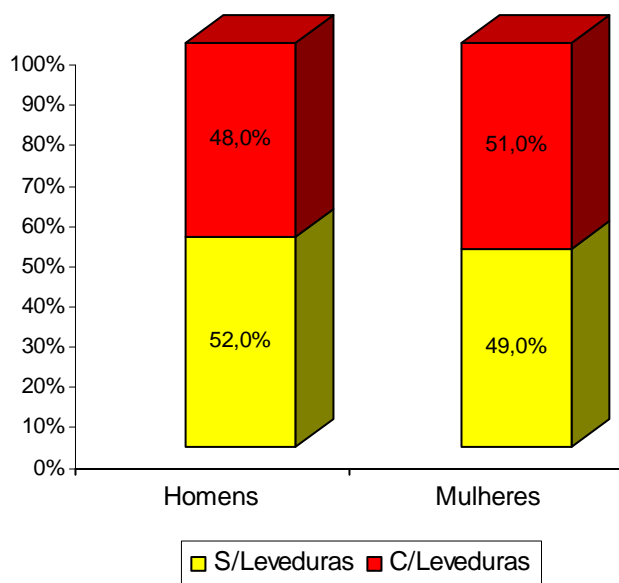


Figura 32 – Gênero e isolamento de Leveduras.

Este resultado é confirmado pelo valor obtido para o *Odds Ratio* 1,128, que não é significativo (I.C._{95%} (0.549; 2.319) (indicando que nenhum dos gêneros apresenta qualquer predisposição para a presença ou ausência de Leveduras).

5.6 - Gênero e fungos isolados

Pela análise da distribuição de frequências verificou-se que as mulheres apresentam maior frequência de isolamento de FFND e de Leveduras e os homens maior frequência de isolamento de Dermatófitos. Porém, não existe associação significativa ($p=0,122$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 21 e na Figura 32.

Quadro 21 – Gênero e fungos isolados

		Fungos isolados				
			FFND	Dermatófitos	Leveduras	Total
Género	Homens	n	11	16	32	59
		%	18,6%	27,1%	54,2%	100,0%
	Mulheres	n	8	3	22	33
		%	24,2%	9,1%	66,7%	100,0%
	Total	n	19	19	54	92
		%	20,7%	20,7%	58,7%	100,0%

$p = 0,122$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

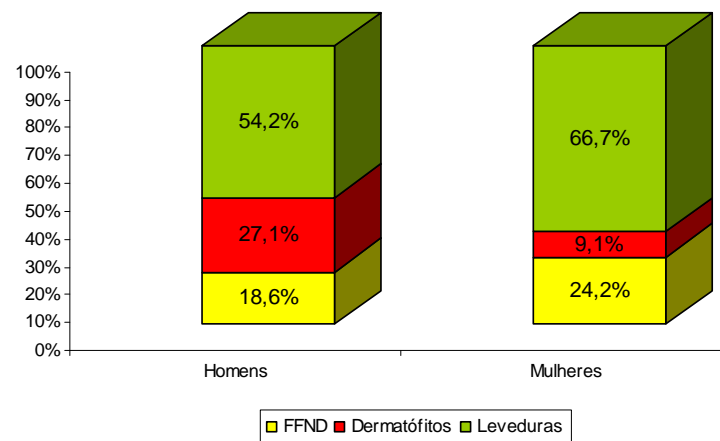


Figura 33 – Gênero e fungos isolados.

5.7 - Gênero e local da lesão

Verificou-se tendência para os homens apresentarem mais lesão visível nos interstícios e as mulheres nas unhas. Conclui-se que existe associação significativa ($p=0,038$), como se pode observar no Quadro 22 e na Figura 34.

Quadro 22 – Gênero e local da lesão

		Local da Lesão					
		Unha	Interstícios	Unha e Interstícios	Outros	Total	
Gênero	Homens	N	13	14	7	5	39
		%	33,3%	35,9%	17,9%	12,8%	100,0%
	Mulheres	N	14	3	1	1	19
		%	73,7%	15,8%	5,3%	5,3%	100,0%
	Total	N	27	17	8	6	58
		%	46,6%	29,3%	13,8%	10,3%	100,0%

$p = 0,038$ (teste Qui-Quadrado) (significativa)

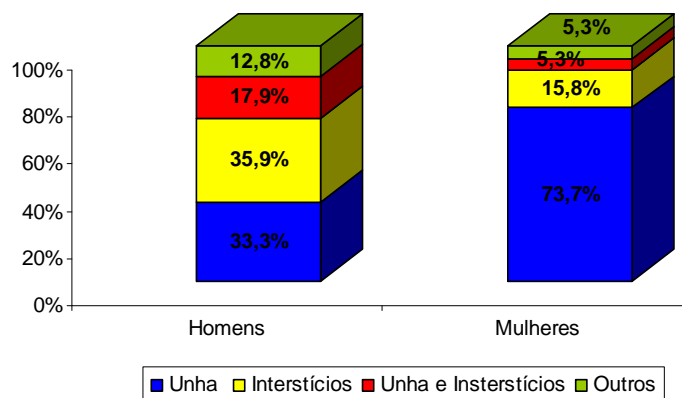


Figura 34 – Gênero e local da lesão.

Aplicando o *Odds ratio* como medida da força da associação, verificou-se que, quanto ao local da lesão, pode dizer-se que os homens têm maior predisposição para não ter lesão nas unhas, não sendo este resultado significativo. As mulheres apresentaram maior predisposição para apresentar lesão nas unhas.

$$\left(\hat{OR} = 0,774; I.C._{95\%} (0,316; 1,898) \right)$$

Quanto à presença de lesões nos interstícios dos dedos, verificou-se que os homens têm aproximadamente 4 vezes mais predisposição para apresentar lesão, sendo este resultado significativo.

$$\left(\hat{OR} = 3,889; I.C._{95\%} (1,021; 14,819) \right)$$

No que diz respeito à lesão nas unhas e interstícios dos dedos, verificou-se que os homens têm, aproximadamente, 6 vezes mais predisposição para presença de lesão não sendo, no entanto, este resultado significativo.

$$\left(\hat{OR} = 5,833; I.C._{95\%} (0,679; 50,107) \right)$$

Finalmente, no que diz respeito a outros tipos de lesão, verificou-se, uma vez mais, que os homens têm uma predisposição cerca de 4 vezes superior para a presença deste tipo de lesões não sendo, no entanto, significativo.

$$\left(\hat{OR} = 4,167; I.C._{95\%} (0,461; 37,643) \right)$$

Os *Odds Ratio* apresentados foram obtidos com base no modelo de Regressão Logística Multinomial.

5.8 - Idade e lesão visível

Verificou-se que o intervalo etário que apresentou maior frequência de indivíduos com lesão foi o dos 28 aos 34 anos (50,7%). Apesar disso, não existe associação significativa ($p=0,564$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 23 e na Figura 35.

Quadro 23 – Idade e lesão visível

			Lesão Visível		
			Não	Sim	Total
Idade	[21; 28[n	20	13	33
		%	60,6%	39,4%	100,0%
	[28; 35[n	33	34	67
		%	49,3%	50,7%	100,0%
	≥35	n	11	10	21
		%	52,4%	47,6%	100,0%
	Total	n	64	57	121
		%	52,9%	47,1%	100,0%

$p = 0,564$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

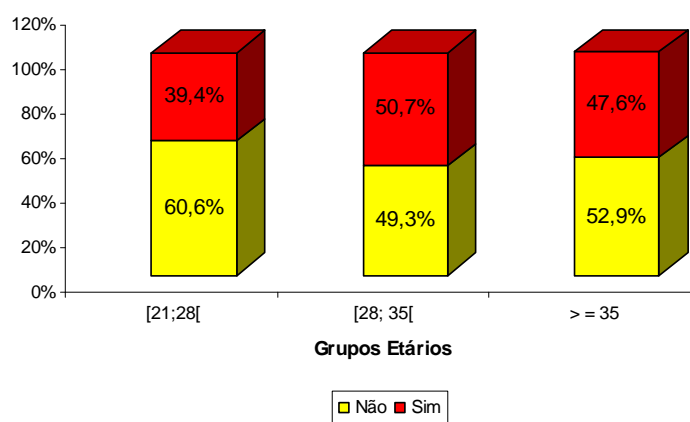


Figura 35 – Idade e Lesão visível.

5.9 - Animal de estimação e lesão visível

Verificou-se frequência ligeiramente superior de lesão nos trabalhadores que possuíam animal de estimação (49,1%) do que nos que não possuíam animal de estimação (44,9%). Concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,644$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 24 e na Figura 36.

Quadro 24 – Animal de estimação e lesão visível

		Lesão			
		Não	Sim	Total	
Animal	Não	n	38	31	69
		%	55,1%	44,9%	100,0%
	Sim	n	28	27	55
		%	50,9%	49,1%	100,0%
	Total	n	66	58	124
		%	53,2%	46,8%	100,0%

$p = 0,644$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

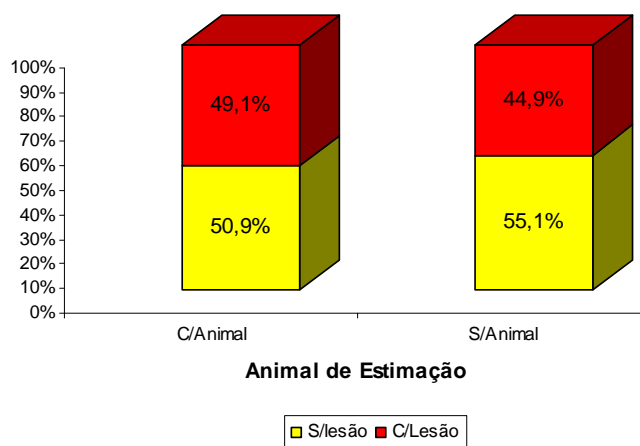


Figura 36 – Animal de estimação e lesão visível.

5.10 - Lesão visível e isolamento fúngico

Na análise da distribuição de frequências verificou-se que os trabalhadores que manifestavam lesão visível apresentaram maior frequência de isolamento fúngico (81,0%) do que os que não apresentaram lesão visível (68,2%). Contudo, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,103$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 25 e na Figura 37.

Quadro 25 – Lesão visível e isolamento fúngico

			Isolamento fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Lesão	Não	n	21	45	66
		%	31,8%	68,2%	100,0%
	Sim	n	11	47	58
		%	19,0%	81,0%	100,0%
	Total	n	32	92	124
		%	25,8%	74,2%	100,0%

$p = 0,103$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

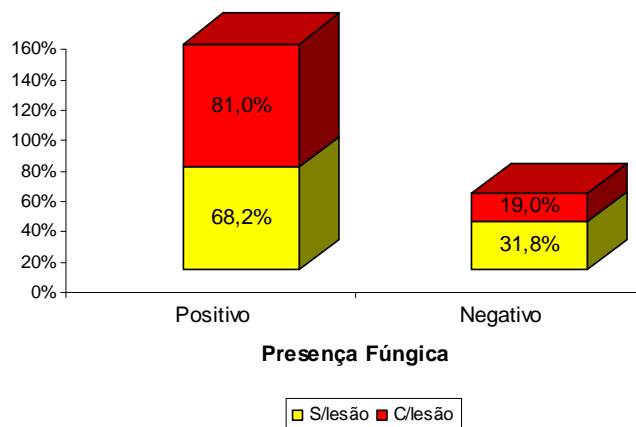


Figura 37 – Lesão visível e isolamento fúngico.

5.11 - Lesão visível e isolamento de Dermatófitos

Constatou-se que existe tendência para se verificar lesão visível quando são isolados Dermatófitos (25,9%), tendo-se concluído que existe associação significativa ($p=0,002$), como se pode observar no Quadro 26 e na Figura 38.

Quadro 26 – Lesão visível e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Lesão	Não	n	62	4	66
		%	93,9%	6,1%	100,0%
	Sim	n	43	15	58
		%	74,1%	25,9%	100,0%
	Total	n	105	19	124
		%	84,7%	15,3%	100,0%

$p = 0,002$ (teste Qui-Quadrado) (significativa)

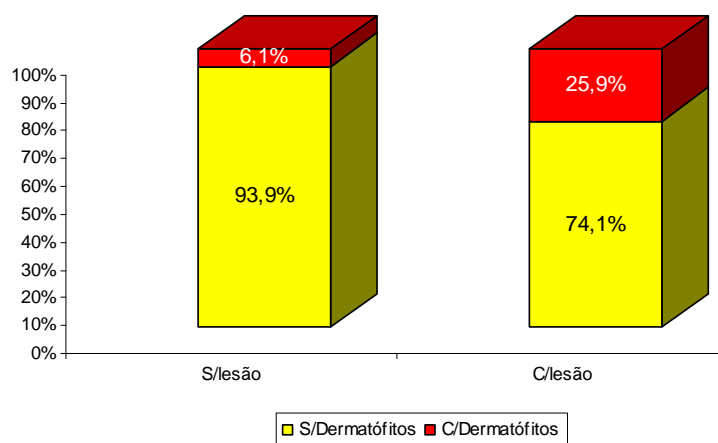


Figura 38 – Lesão visível e isolamento de Dermatófitos.

Aplicando o *Odds Ratio* como medida da força da associação, verificamos que os trabalhadores que têm lesão visível apresentam 7,5 vezes mais predisposição para serem isolados Dermatófitos, sendo este resultado significativo.

$$\left(\hat{OR} = 7,456; I.C._{95\%} (2,597; 21,408) \right)$$

5.12 - Lesão visível e fungos isolados

Não considerando as infecções conjuntas, verificou-se tendência para se observar lesão visível quando são isolados Dermatófitos e tendência para não se verificar lesão visível quando se isolam Leveduras e FFND. Conclui-se que existe associação significativa ($p=0,024$), como se pode observar no Quadro 27 e na Figura 39.

Quadro 27 – Lesão visível e fungos isolados

		Fungos isolados				
				Dermatófitos	Leveduras	Total
		FFND				
Lesão	Não	n	11	4	30	45
		%	24,4%	8,9%	66,7%	100,0%
	Sim	n	8	15	24	47
		%	17,0%	31,9%	51,1%	100,0%
	Total	n	19	19	54	92
		%	20,7%	20,7%	58,7%	100,0%

$p = 0,024$ (teste Qui-Quadrado) (significativa)

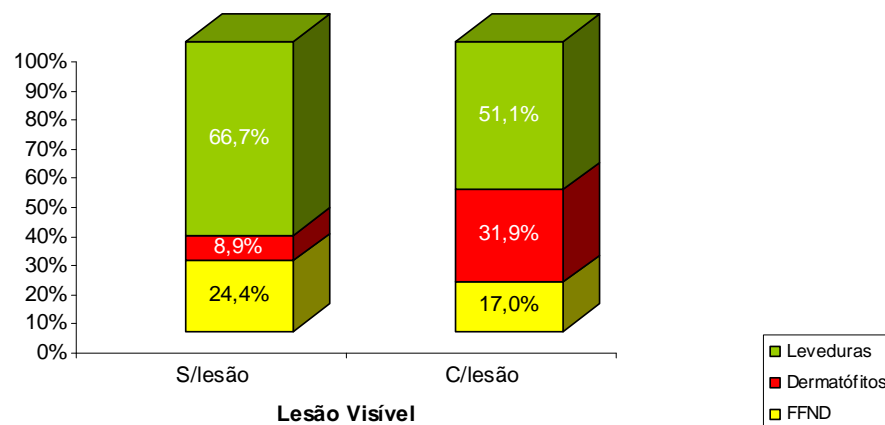


Figura 39 – Lesão visível e fungos isolados.

Aplicando o *Odds Ratio* como medida da força da associação, tendo por base a Regressão Logística Multinomial, verificamos que os trabalhadores com lesão visível, possuem:

- 7 vezes mais predisposição para a presença de Dermatófitos, sendo o resultado significativo:

$$\left(\hat{OR} = 7,159; I.C._{95\%} (1,908; 26,863) \right)$$

- 1,5 vezes mais predisposição para a presença de Leveduras, sendo o resultado não significativo:

$$\left(\hat{OR} = 1,527; I.C._{95\%} (0,617; 3,778) \right)$$

- 1,4 vezes mais predisposição para ter FFND, não sendo o resultado significativo:

$$\left(\hat{OR} = 1,388; I.C._{95\%} (0,432; 4,459) \right)$$

5.13 - Frequência de piscinas nos tempos livres e lesão visível

Pela análise de distribuição de frequências constatou-se uma ligeira superioridade nos trabalhadores que frequentavam piscinas e possuíam lesão (47,5%) em relação à frequência do que os que não frequentavam piscina e possuíam lesão (46,0%). No entanto, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,866$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 28 e na Figura 40.

Quadro 28 – Frequência de piscinas nos tempos livres e lesão

			Lesão		
			Não	Sim	Total
Piscinas	Não	n	34	29	63
		%	54,0%	46,0%	100,0%
	Sim	n	32	29	61
		%	52,5%	47,5%	100,0%
	Total	n	66	58	124
		%	53,2%	46,8%	100,0%

$p = 0,866$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

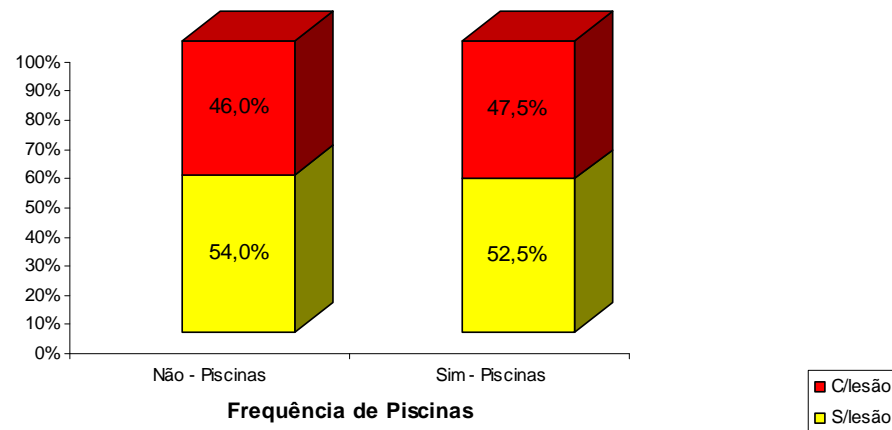


Figura 40 – Frequência de piscinas nos tempos livres e lesão.

5.14 - Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento fúngico

Através da análise da distribuição de frequências constatou-se maior frequência de isolamento fúngico (78,7%) nos trabalhadores que frequentavam piscinas dos que os que não frequentavam (69,8%). Todavia, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,260$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 29 e na Figura 41.

Quadro 29 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento fúngico

			Isolamento fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Piscinas	Não	N	19	44	63
		%	30,2%	69,8%	100,0%
	Sim	n	13	48	61
		%	21,3%	78,7%	100,0%
	Total	n	32	92	124
		%	25,8%	74,2%	100,0%

$p = 0,260$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

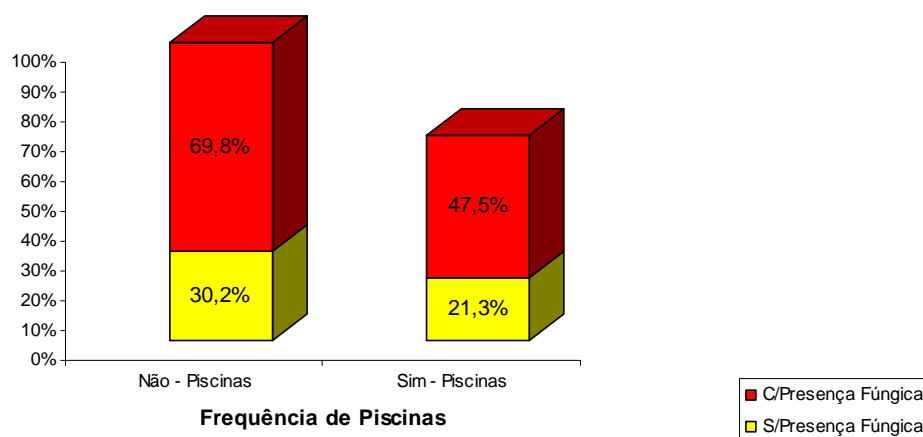


Figura 41 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento fúngico.

5.15 - Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento de Dermatófitos

Foi possível observar, através da análise da distribuição de frequências, que os trabalhadores que não frequentavam piscinas nos seus tempos livres apresentavam maior frequência de isolamento de Dermatófitos (19,0%) do que os que frequentavam piscinas (11,5%). Porém, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,242$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 30 e na Figura 42.

Quadro 30 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Piscinas	Não	n	51	12	63
		%	81,0%	19,0%	100,0%
	Sim	n	54	7	61
		%	88,5%	11,5%	100,0%
	Total	n	105	19	124
		%	84,7%	15,3%	100,0%

$p = 0,242$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

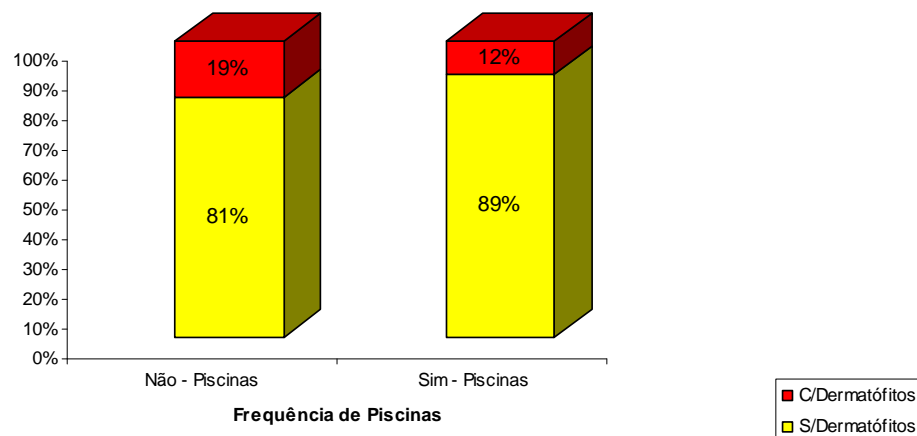


Figura 42 – Frequência de piscinas nos tempos livres e isolamento de Dermatófitos.

5.16 - Frequência de piscinas nos tempos livres e fungos isolados

Através da análise da distribuição de frequências verificou-se que os trabalhadores que frequentavam piscinas nos tempos livres apresentavam maior frequência de Leveduras (66,7%) do que os que não frequentavam piscinas (50,0%). No entanto, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,217$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 31 e na Figura 43.

Quadro 31 – Frequência de piscinas nos tempos livres e fungos isolados

		Fungos isolados				
		FFND	Dermatófitos	Leveduras	Total	
Piscinas	Não	n	10	12	22	44
		%	22,7%	27,3%	50,0%	100,0%
	Sim	n	9	7	32	48
		%	18,8%	14,6%	66,7%	100,0%
	Total	n	19	19	54	92
		%	20,7%	20,7%	58,7%	100,0%

$p = 0,242$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

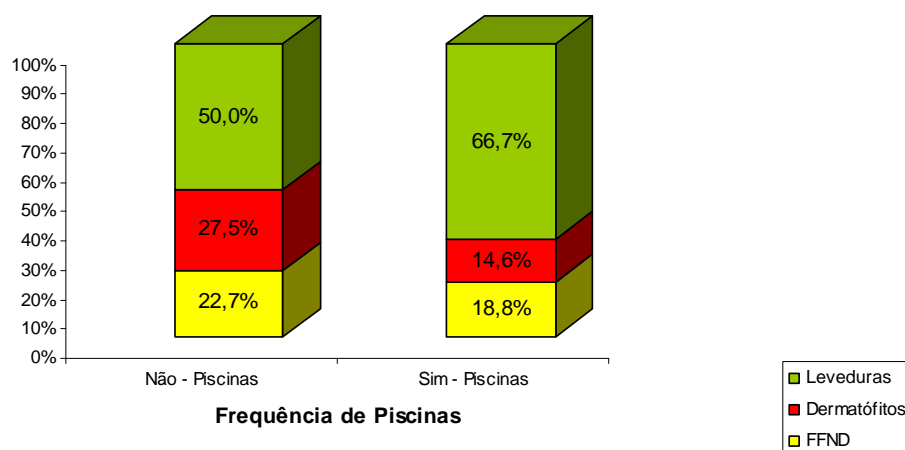


Figura 43 – Frequência de piscinas nos tempos livres e fungos isolados.

5.17 - Tipo de actividade profissional e lesão visível

Pela distribuição de frequências foi possível constatar que os indivíduos que realizavam a sua actividade profissional calçados tinham menor frequência de lesão (45,1%), do que os que realizavam algumas das actividades, ou todas, com os pés descalços, classificados como “mistos” (52,0%). Todavia, constatou-se que não existe associação significativa ($p=0,452$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 32 e na Figura 44.

Quadro 32 – Tipo de actividade profissional e lesão visível

			Lesão		
			Não	Sim	Total
Actividade profissional	Calçados	n	39	32	71
		%	54,9%	45,1%	100,0%
	Mistos	n	24	26	50
		%	48,0%	52,0%	100,0%
	Total	n	63	58	121
		%	52,1%	47,9%	100,0%

$p = 0,452$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

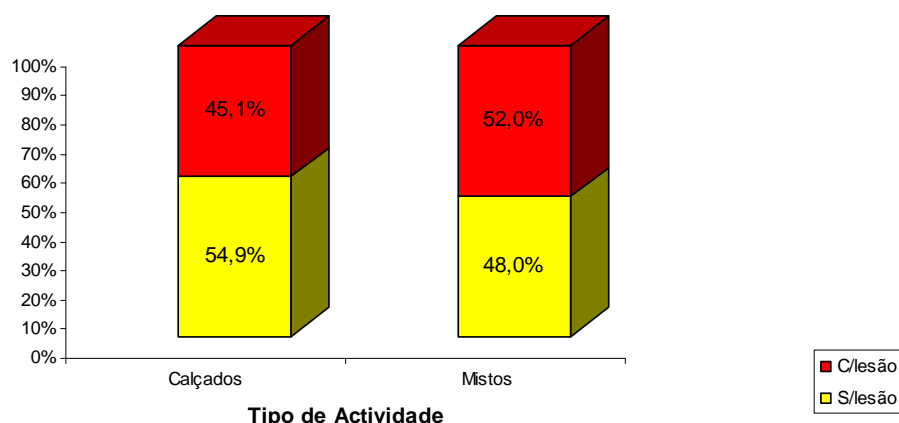


Figura 44 – Tipo de actividade profissional e lesão visível.

5.18 - Tipo de actividade profissional e isolamento fúngico

Através da análise da distribuição de frequências, verificou-se que os trabalhadores que realizavam a sua actividade sempre calçados apresentavam maior frequência de isolamento fúngico (77,5%) do que os que foram incluídos na categoria dos “mistos” (70,0%). Porém, verificou-se que não existe associação significativa ($p=0,354$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 33 e na Figura 45.

Quadro 33 – Tipo de actividade profissional e isolamento fúngico

			Isolamento fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Actividade profissional	Calçados	n	16	55	71
		%	22,5%	77,5%	100,0%
	Mistos	n	15	35	50
		%	30,0%	70,0%	100,0%
	Total	n	31	90	121
		%	25,6%	74,4%	100,0%

$p = 0,354$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

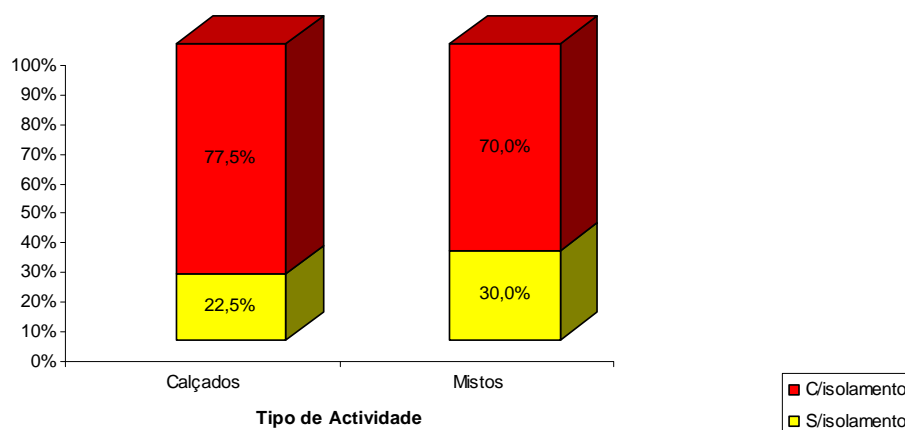


Figura 45 – Tipo de actividade profissional e isolamento fúngico.

5.19 - Tipo de actividade profissional e isolamento de Dermatófitos

A análise de distribuição de frequências permitiu verificar maior frequência de isolamento de Dermatófitos nos trabalhadores incluídos na categoria dos “calçados” (19,7%) do que nos incluídos na categoria dos “mistos” (10,0%). No entanto, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,148$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 34 e na Figura 46.

Quadro 34 – Tipo de actividade profissional e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Actividade profissional	Calçados	n	57	14	71
		%	80,3%	19,7%	100,0%
	Mistos	n	45	5	50
		%	90,0%	10,0%	100,0%
	Total	n	102	19	121
		%	84,3%	15,7%	100,0%

$p = 0,148$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

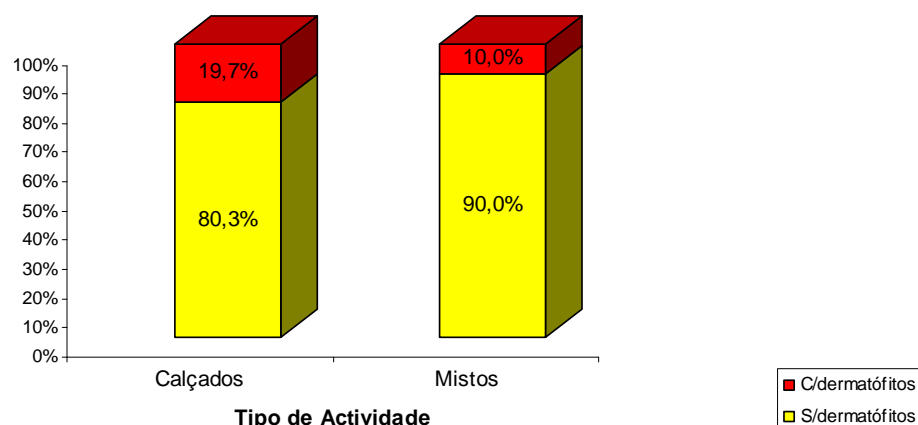


Figura 46 – Tipo de actividade profissional e isolamento de Dermatófitos.

5.20 - Tipo de actividade profissional e fungos isolados

Constatou-se, pela análise da distribuição de frequências, maior frequência de isolamento de Dermatófitos e FFND nos trabalhadores inseridos na categoria dos “calçados” (25,5%) e maior frequência de isolamento de Leveduras nos trabalhadores inseridos na categoria dos “mistos” (65,7%). Todavia, não existe associação significativa ($p=0,383$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 35 e na Figura 47.

Quadro 35 – Tipo de actividade profissional e fungos isolados

			Fungos isolados			
			FFND	Dermatófitos	Leveduras	Total
Actividade profissional	Calçados	n	12	14	29	55
		%	21,8%	25,5%	52,7%	100,0%
	Mistos	n	7	5	23	35
		%	20,0%	14,3%	65,7%	100,0%
	Total	n	19	19	52	90
		%	21,1%	21,1%	57,8%	100,0%

$p = 0,383$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

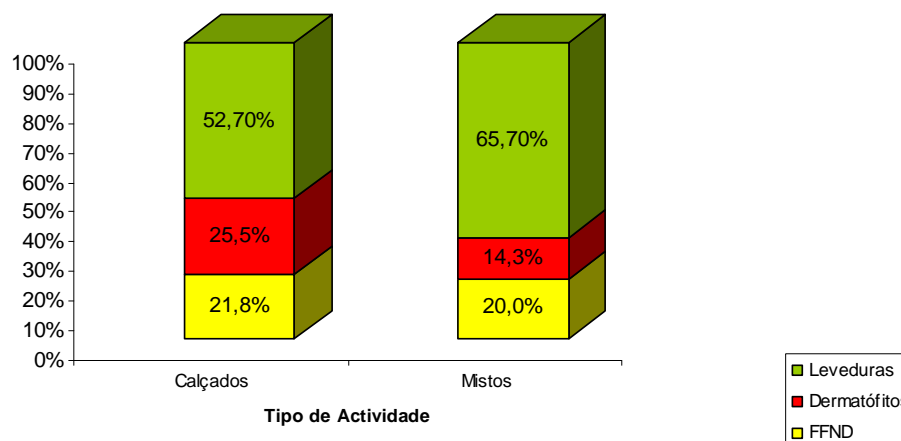


Figura 47 – Tipo de actividade profissional e fungos isolados.

5.21 - Tempo de profissão e lesão visível

Detectou-se tendência para que quem tem menor tempo de profissão não apresente lesão visível e para que quem tem maior tempo de profissão apresente lesão visível. Constatou-se que existe associação significativa ($p=0,028$), como se pode observar no Quadro 36 e na Figura 48.

Quadro 36 – Tempo de profissão e lesão visível

			Lesão		
			Não	Sim	Total
Tempo de profissão	<20	n	21	8	29
		%	72,4%	27,6%	100,0%
	[20; 40[n	11	10	21
		%	52,4%	47,6%	100,0%
	>=40	n	23	32	55
		%	41,8%	58,2%	100,0%
	Total	n	55	50	105
		%	52,4%	47,6%	100,0%

$p = 0,028$ (teste Qui-Quadrado) (significativa)

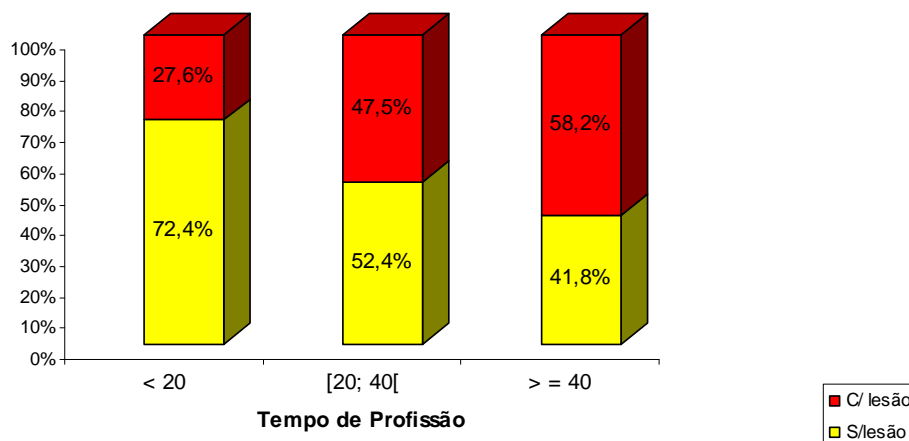


Figura 48 – Tempo de profissão e lesão visível.

5.22 - Tempo de profissão e isolamento fúngico

Através da análise da distribuição de frequências verificou-se maior frequência de isolamento fúngico no tempo de profissão entre os 20 e os 40 meses (81,0%) do que no tempo de profissão superior a 40 meses (74,5%) e no inferior a 20 meses (62,1%). Contudo, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,295$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 37 e na Figura 49.

Quadro 37 – Tempo de profissão e isolamento fúngico

			Isolamento fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Tempo de profissão	<20	n	11	18	29
		%	37,9%	62,1%	100,0%
	[20; 40[n	4	17	21
		%	19,0%	81,0%	100,0%
	>=40	n	14	41	55
		%	25,5%	74,5%	100,0%
	Total	n	29	76	105
		%	27,6%	72,4%	100,0%

$p = 0,295$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

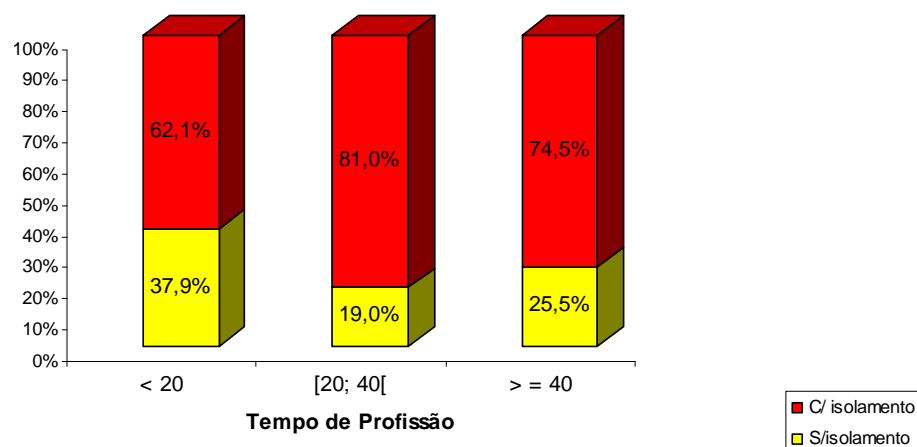


Figura 49 – Tempo de profissão e isolamento fúngico.

5.23 - Tempo de profissão e isolamento de Dermatófitos

Através da análise da distribuição de frequências verificou-se maior frequência de isolamento de Dermatófitos nos trabalhadores com tempo de profissão entre os 20 e os 40 meses (23,8%) do que nos outros intervalos temporais. No entanto, concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,245$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 38 e na Figura 50.

Quadro 38 – Tempo de profissão e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Tempo de profissão	<20	n	27	2	29
		%	93,1%	6,9%	100,0%
	[20; 40[n	16	5	21
		%	76,2%	23,8%	100,0%
	>=40	n	46	9	55
		%	83,6%	16,4%	100,0%
	Total	n	89	16	105
		%	84,8%	15,2%	100,0%

$p = 0,245$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

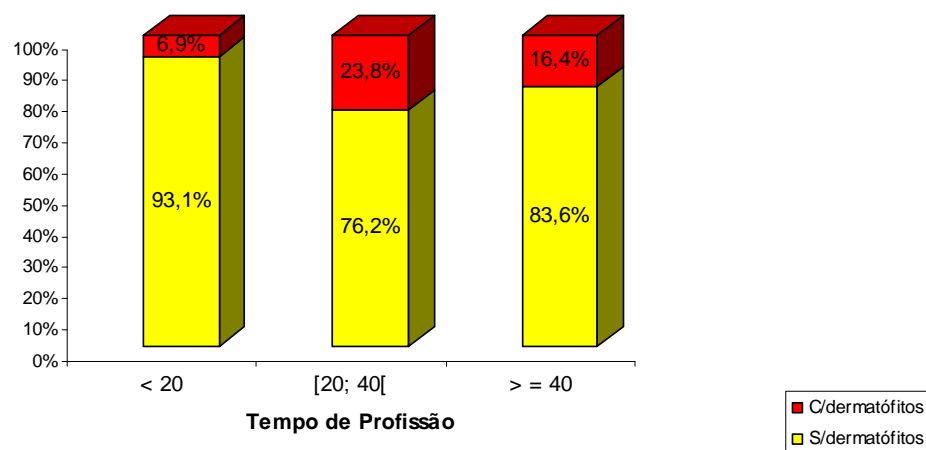


Figura 50 – Tempo de profissão e isolamento de Dermatófitos.

5.24 - Tempo de profissão e fungos isolados

Pela análise da distribuição de frequência verificou-se que os FFND apresentaram maior frequência de isolamento nos trabalhadores com 40 ou mais meses de tempo de serviço (26,8%), os Dermatófitos maior frequência de isolamento nos trabalhadores com tempo de profissão entre os 20 e os 40 meses e as Leveduras maior frequência de isolamento nos trabalhadores com tempo de profissão inferior a 20 meses. Porém, não existe associação significativa ($p=0,327$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 39 e na Figura 51.

Quadro 39 – Tempo de profissão e fungos isolados

			Fungos isolados			
			FFND	Dermatófitos	Leveduras	Total
Tempo de profissão	<20	n	4	2	12	18
		%	22,2%	11,1%	66,7%	100,0%
	[20; 40[n	1	5	11	17
		%	5,9%	29,4%	64,7%	100,0%
	>=40	n	11	9	21	41
		%	26,8%	22,0%	51,2%	100,0%
	Total	n	16	16	44	76
		%	21,1%	21,1%	57,9%	100,0%

$p = 0,327$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

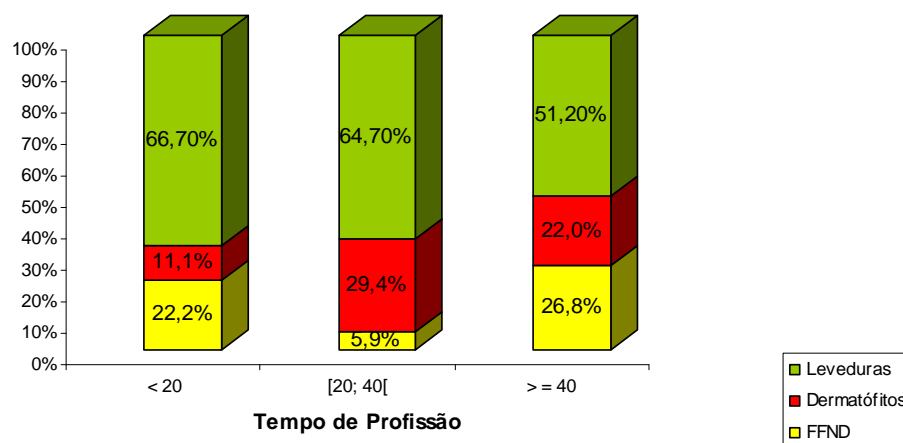


Figura 51 – Tempo de profissão e fungos isolados.

5.25 - Horas semanais de trabalho e lesão visível

Detectou-se tendência para que quem tem um maior número de horas de trabalho por semana apresente lesão. Verificou-se que existe associação significativa ($p=0,013$), como se pode observar no Quadro 40 e na Figura 52.

Quadro 40 – Horas semanais de trabalho e lesão visível

			Lesão visível		
			Não	Sim	Total
Horas semanais	<15	n	20	10	30
		%	66,7%	33,3%	100,0%
	[15; 30[n	9	20	29
		%	31,0%	69,0%	100,0%
	>=30	n	33	23	56
		%	58,9%	41,1%	100,0%
	Total	n	62	53	115
		%	53,9%	46,1%	100,0%

$p = 0,013$ (teste Qui-Quadrado) (significativa)

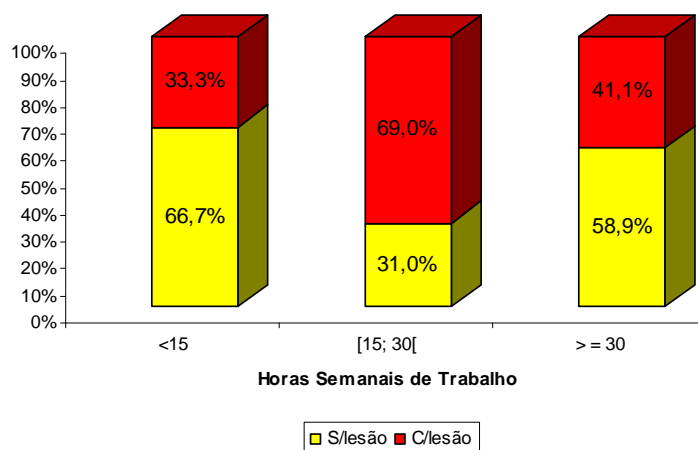


Figura 52 – Horas semanais de trabalho e lesão visível.

5.26 - Horas semanais de trabalho e isolamento fúngico

Pela análise da distribuição de frequências verificou-se que os trabalhadores que realizavam mais horas semanais (≥ 30) apresentavam maior frequência de isolamento fúngico (73,2%). No entanto, não existe associação significativa ($p=0,950$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 41 e na Figura 53.

Quadro 41 – Horas semanais de trabalho e isolamento fúngico

			Isolamento fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Horas semanais	<15	n	9	21	30
		%	30,0%	70,0%	100,0%
	[15; 30[n	8	21	29
		%	27,6%	72,4%	100,0%
	≥ 30	n	15	41	56
		%	26,8%	73,2%	100,0%
	Total	n	32	83	115
		%	27,8%	72,2%	100,0%

$p = 0,950$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

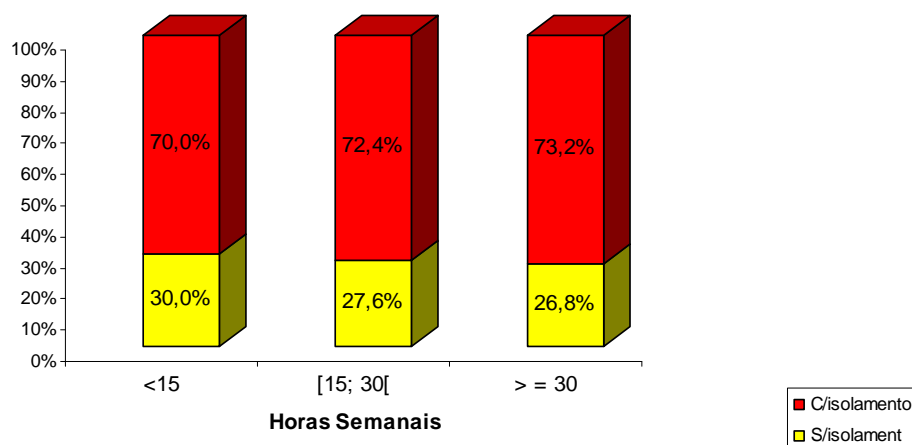


Figura 53 – Horas semanais de trabalho e isolamento fúngico.

5.27 - Horas semanais de trabalho e isolamento de Dermatófitos

Foi possível constatar, pela análise da distribuição de frequências, que os trabalhadores que apresentavam maior frequência de isolamento de Dermatófitos foram os que despendiam entre 15 a 30 horas semanais na sua actividade profissional. Concluiu-se, porém, que não existe associação significativa ($p=0,685$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 42 e na Figura 54.

Quadro 42 – Horas semanais e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Horas semanais	<15	n	27	3	30
		%	90,0%	10,0%	100,0%
	[15; 30[n	24	5	29
		%	82,8%	17,2%	100,0%
	>=30	n	47	9	56
		%	83,9%	16,1%	100,0%
	Total	n	98	17	115
		%	85,2%	14,8%	100,0%

$p = 0,685$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

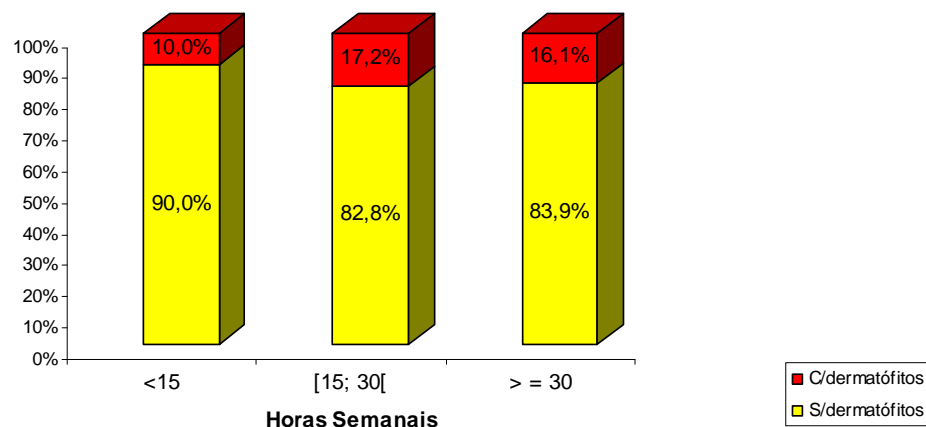


Figura 54 – Horas semanais de trabalho e isolamento de Dermatófitos.

5.28 - Horas semanais de trabalho e fungos isolados

Foi possível verificar, através da análise da distribuição de frequências, que os FFND apresentavam maior frequência de isolamento no intervalo em que os trabalhadores despendiam menos número de horas semanais na sua actividade profissional (28,6%), os Dermatófitos apresentavam maior frequência de isolamento nos trabalhadores que despendiam entre 15 a 30 horas semanais (23,8%) e as Leveduras apresentavam maior frequência de isolamento nos trabalhadores que despendiam mais horas semanais na sua actividade profissional (58,5%). No entanto, constatou-se que não existe associação significativa ($p=0,882$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 43 e na Figura 55.

Quadro 43 – Horas semanais e fungos isolados

			Fungos isolados			
			FFND	Dermatófitos	Leveduras	Total
Horas semanais	<15	n	6	3	12	21
		%	28,6%	14,3%	57,1%	100,0%
	[15; 30[n	4	5	12	21
		%	19,0%	23,8%	57,1%	100,0%
	>=30	n	8	9	24	41
		%	19,5%	22,0%	58,5%	100,0%
	Total	n	18	17	48	83
		%	21,7%	20,5%	57,8%	100,0%

$p = 0,882$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

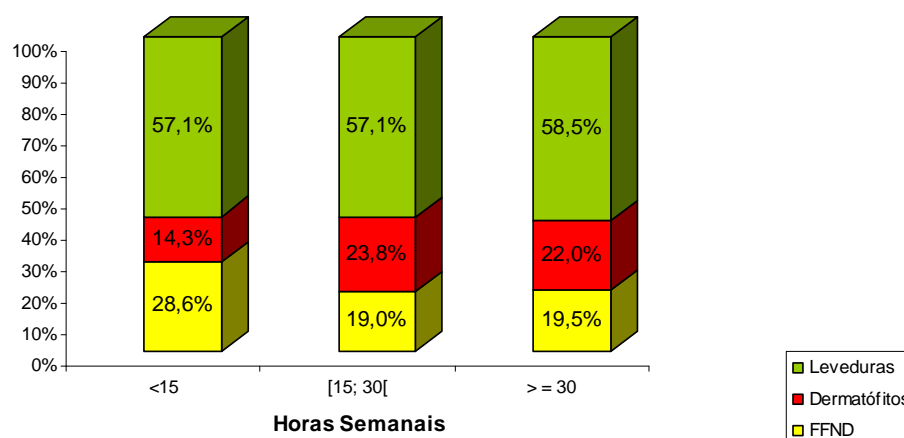


Figura 55 – Horas semanais de trabalho e fungos isolados.

Aplicando o *Odds Ratio* como medida da força da associação, com base no Modelo de Regressão Logística Binária e considerando para o tempo de profissão e para as horas semanais os valores originais, obtiveram-se os seguintes resultados:

- Por cada ano a mais de tempo de serviço, há um aumento de 1,1% na predisposição para a presença de lesão, sendo o resultado significativo;

$$\left(\hat{OR} = 1,011; I.C._{95\%} (1,002; 1,020) \right)$$

- Por cada hora a mais por semana, não se detectou qualquer tendência, sendo o resultado não significativo.

$$\left(\hat{OR} = 1,004; I.C._{95\%} (0,982; 1,027) \right)$$

5.29 - Andar descalço e lesão visível

Constatou-se, pela distribuição de frequências, que apenas se verificou ligeira superioridade referente aos que andavam descalços e apresentavam lesão (47,0%). Contudo, não existe associação significativa ($p=0,963$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 44 e na Figura 56.

Quadro 44 – Andar descalço e lesão visível

			Lesão		
			Não	Sim	Total
Descalço	Não	n	31	27	58
		%	53,4%	46,6%	100,0%
	Sim	n	35	31	66
		%	53,0%	47,0%	100,0%
	Total	n	66	58	124
		%	53,2%	46,8%	100,0%

$p = 0,963$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

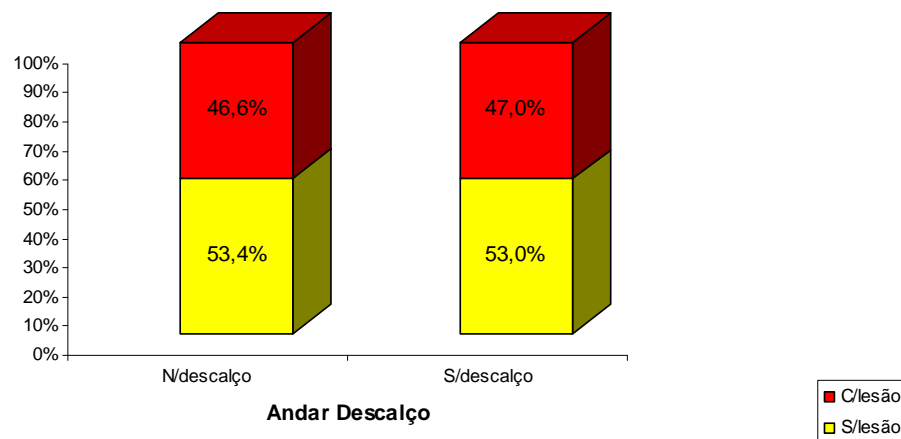


Figura 56 – Andar descalço e lesão visível.

5.30 – Andar descalço e isolamento fúngico

Através da análise da distribuição de frequências verificou-se que os trabalhadores que andavam descalços apresentavam maior frequência de isolamento fúngico (76,4%) do que os que não andavam descalços (72,5%). Concluiu-se que não existe associação significativa ($p=0,622$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 45 e na Figura 57.

Quadro 45 – Andar descalço e isolamento fúngico

			Isolamento fúngico		
			Negativo	Positivo	Total
Anda descalço	Não	n	19	50	69
		%	27,5%	72,5%	100,0%
	Sim	n	13	42	55
		%	23,6%	76,4%	100,0%
	Total	n	32	92	124
		%	25,8%	74,2%	100,0%

$p = 0,622$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

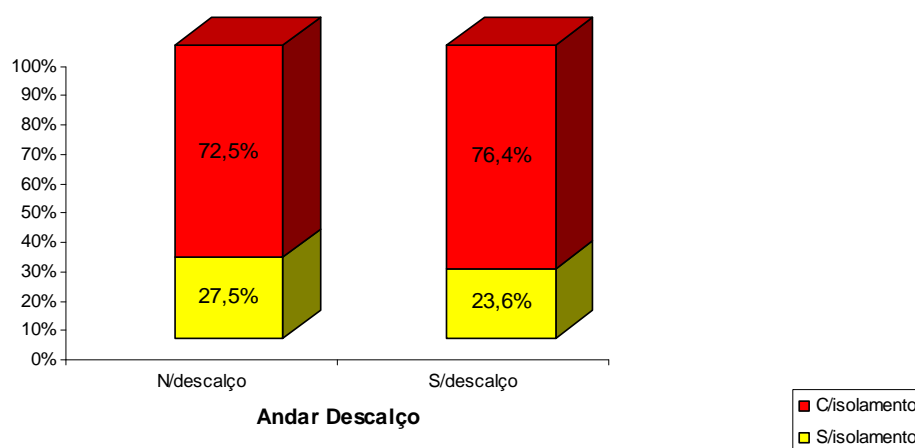


Figura 57 – Andar descalço e isolamento fúngico.

5.31 - Andar descalço e isolamento de Dermatófitos

Foi possível verificar, através da análise da distribuição de frequências, que os profissionais que não andavam descalços apresentavam maior frequência de isolamento de Dermatófitos (18,8%) do que os que andavam descalços (10,9%). Porém, não existe associação significativa ($p=0,223$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 46 e na Figura 58.

Quadro 46 – Andar descalço e isolamento de Dermatófitos

			Dermatófitos		
			Ausente	Presente	Total
Anda descalço	Não	n	56	13	69
		%	81,2%	18,8%	100,0%
	Sim	n	49	6	55
		%	89,1%	10,9%	100,0%
	Total	n	105	19	124
		%	84,7%	15,3%	100,0%

$p = 0,223$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

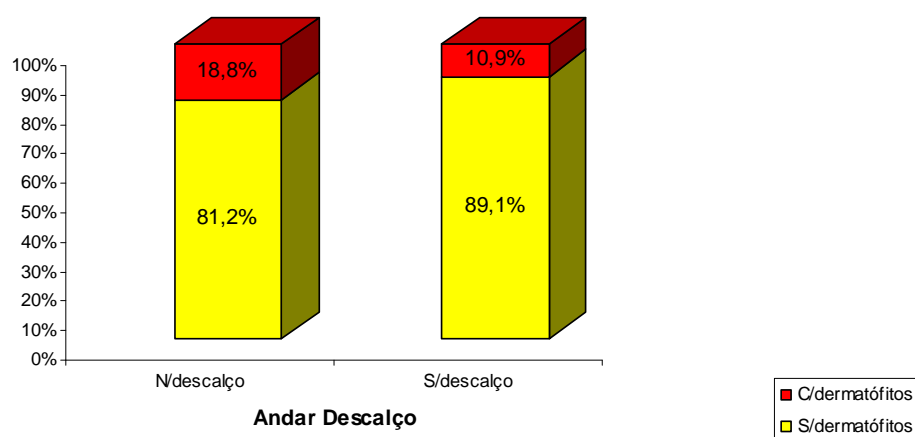


Figura 58 – Andar descalço e isolamento de Dermatófitos.

5.32 - Andar descalço e fungos isolados

Pela análise da distribuição de frequências verificou-se que as Leveduras foram as mais isoladas nos profissionais que andavam descalços e nos que não andavam descalços e que tanto os Dermatófitos como os FFND apresentaram a mesma frequência de isolamento nos que andavam descalços e nos que não andavam. Constatou-se que não existe associação significativa ($p=0,075$), pois as diferenças não são estatisticamente significativas, como se pode observar no Quadro 47 e na Figura 59.

Quadro 47 – Andar descalço e fungos isolados

		Fungos isolados				
			FFND	Dermatófitos	Leveduras	Total
Anda descalço	Não	n	13	13	24	50
		%	26,0%	26,0%	48,0%	100,0%
	Sim	n	6	6	30	42
		%	14,3%	14,3%	71,4%	100,0%
	Total	n	19	19	54	92
		%	20,7%	20,7%	58,7%	100,0%

$p = 0,075$ (teste Qui-Quadrado) (n. s.)

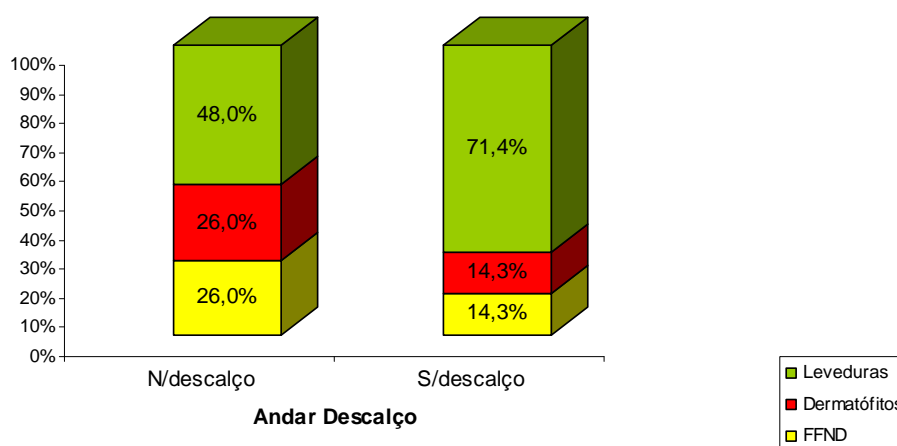
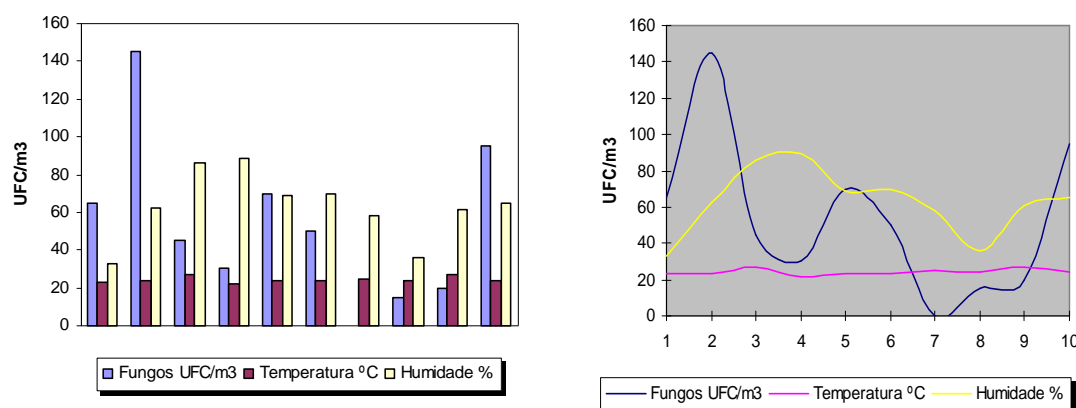


Figura 59 – Andar descalço e fungos isolados.

5.33 - Contaminação fúngica do ar e variáveis ambientais

Quanto aos resultados sobre a influência das variáveis ambientais monitorizadas, verificou-se uma correlação positiva muito fraca com a temperatura ($p > 0,05$), variando esta em sentido positivo (aumento) de 0,1 das UFC/m³, contribuindo somente em 0,14% para explicação da variação das UFC/m³. Relativamente à humidade relativa, constatou-se que, por cada unidade a mais na humidade relativa, há uma variação em sentido negativo (diminuição) de 0,203 das UFC/m³ ($p > 0,05$), contribuindo em 19,8% para explicação da variação das UFC/m³. Estes resultados já eram expectáveis pois, no nosso estudo, a correlação da temperatura e da humidade relativa com as UFC/m³ é muito fraca, tal como se pode ver nas Figuras 60 e 61 apresentadas e referentes aos balneários e vestiários masculinos.



Figuras 60 e 61 – Fungos filamentosos isolados no ar interior dos balneários e vestiários masculinos dos 10 estabelecimentos e os valores obtidos com a monitorização das variáveis ambientais temperatura e humidade relativa.

Foi possível também verificar que, quando se registaram as condições óptimas de disseminação fúngica, mais especificamente temperatura entre os 22 e 27° C e humidade relativa entre 75 e 80%, nos balneários e vestiários masculinos do ginásio com piscina nº 3 não ocorreu uma concentração superior à do exterior, sendo apenas de 45 UFC/m³.

Em relação aos dados obtidos sobre a velocidade do ar nos espaços monitorizados, foi possível constatar que ocorreram poucas variações neste parâmetro, devido ao controlo assegurado pelos sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado, variando os resultados obtidos entre 0,0 e 0,47 m/s, tendo este último valor sido obtido na nave da piscina do estabelecimento nº 1.

5.33.1 - Fungos mais frequentes no ar e variáveis ambientais

Relativamente aos resultados sobre a influência das variáveis ambientais avaliadas nas UFC/m³ dos três géneros fúngicos mais frequentes no ar, nomeadamente *Cladosporium*, *Penicillium* e *Aspergillus*, verificou-se que a relação não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$), com excepção do género *Penicillium* em relação à temperatura ($p = 0,000156 < 0,05$), como se pode verificar nas Figuras nº 62, 63, 64, 65, 66 e 67. Neste caso, a temperatura contribui em 29,13% para a explicação da variação das UFC/m³ do género *Penicillium*, como se pode observar na Figura 64.

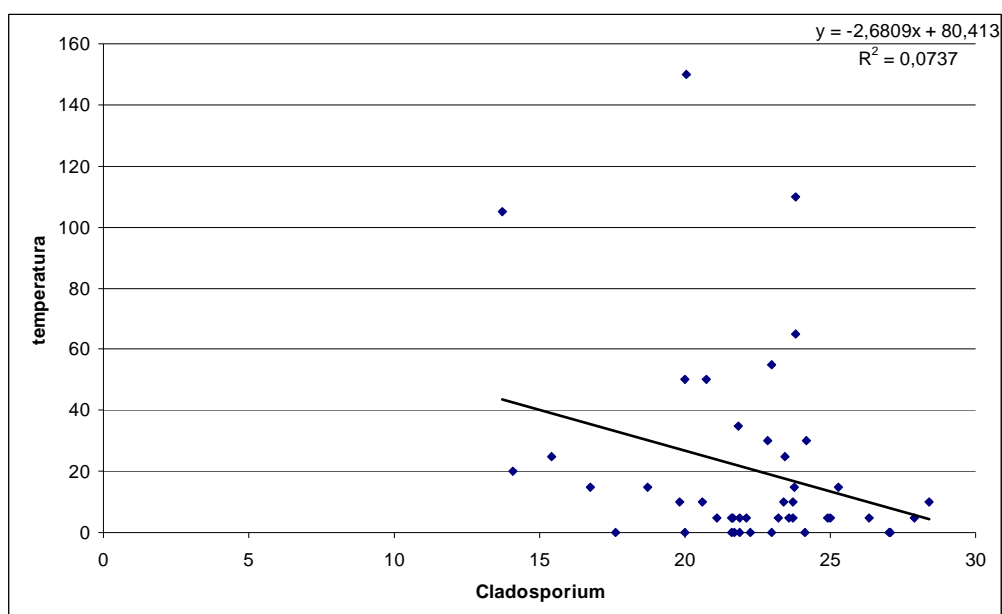


Figura 62 – Influência da temperatura nas médias das UFC/m³ do género *Cladosporium*.

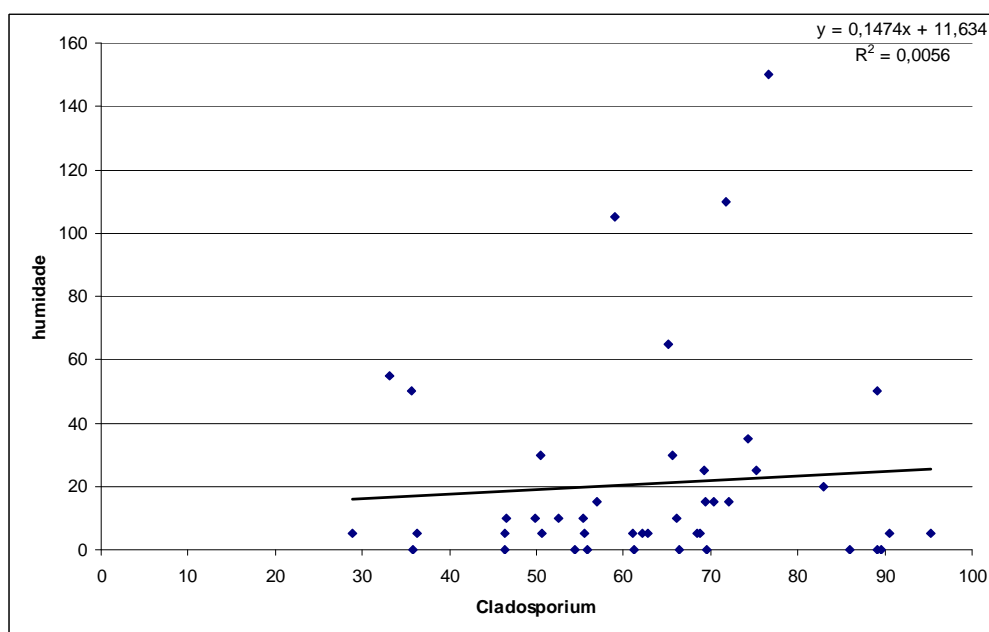


Figura 63 – Influência da humidade relativa nas médias das UFC/m³ do género *Cladosporium*.

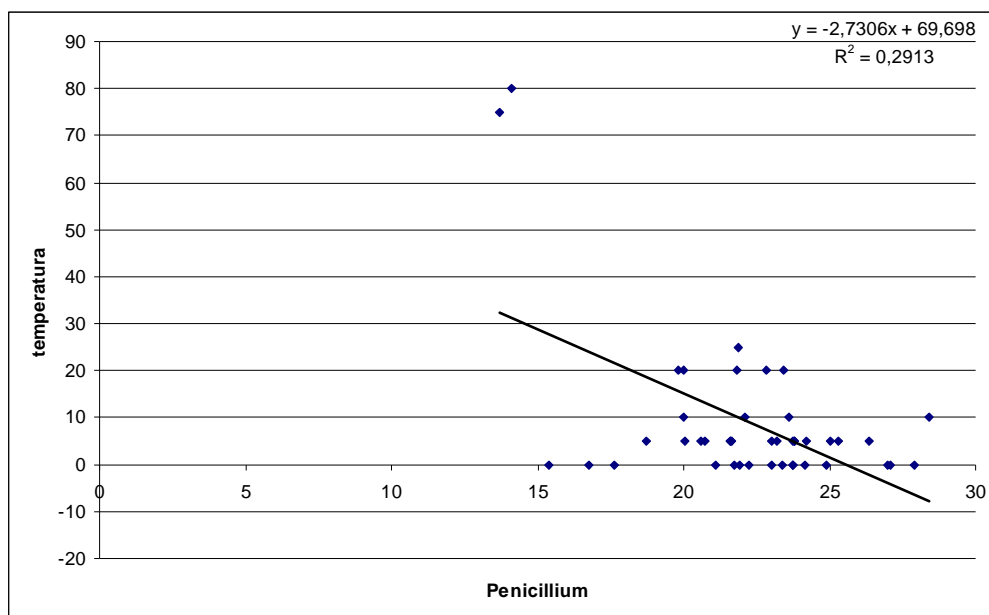


Figura 64 – Influência da temperatura nas médias das UFC/m³ do género *Penicillium*.

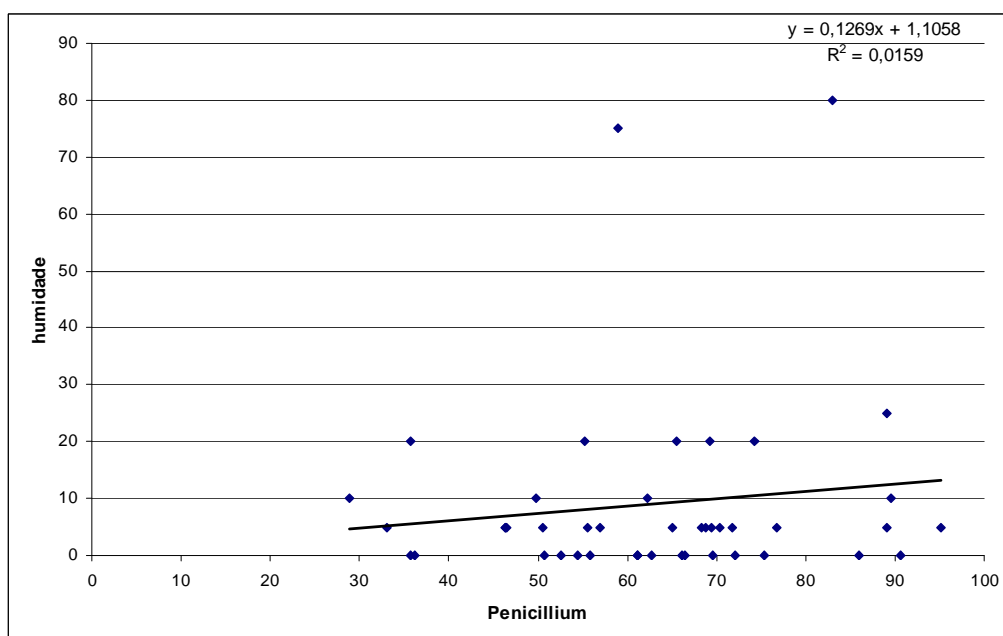


Figura 65 – Influência da humidade relativa nas médias das UFC/m³ do género *Penicillium*.

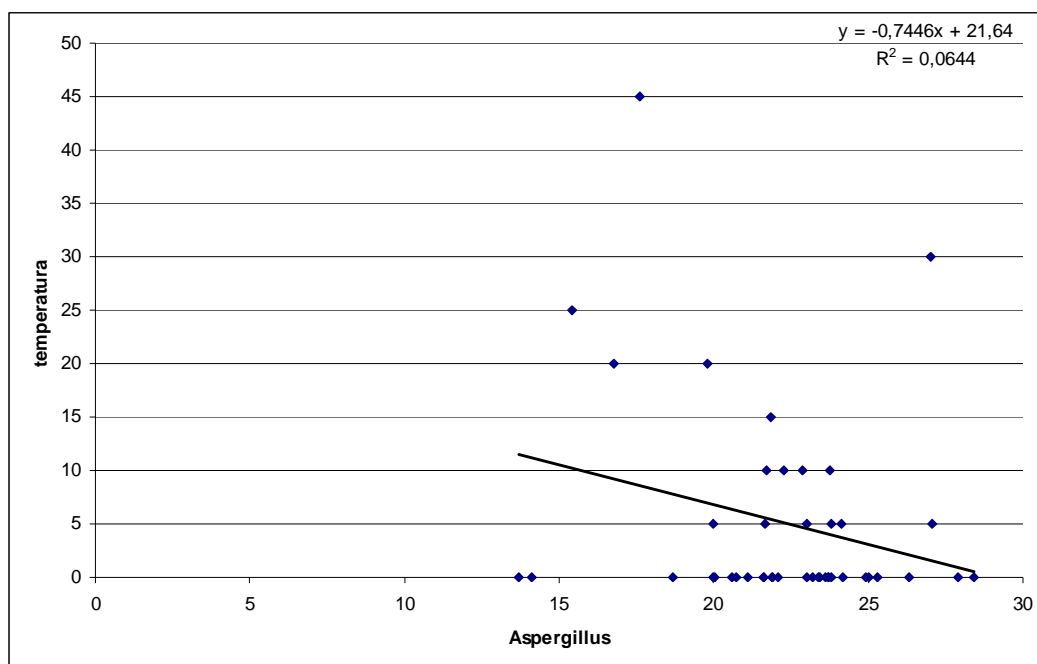


Figura 66 – Influência da temperatura nas médias das UFC/m³ do género *Aspergillus*.

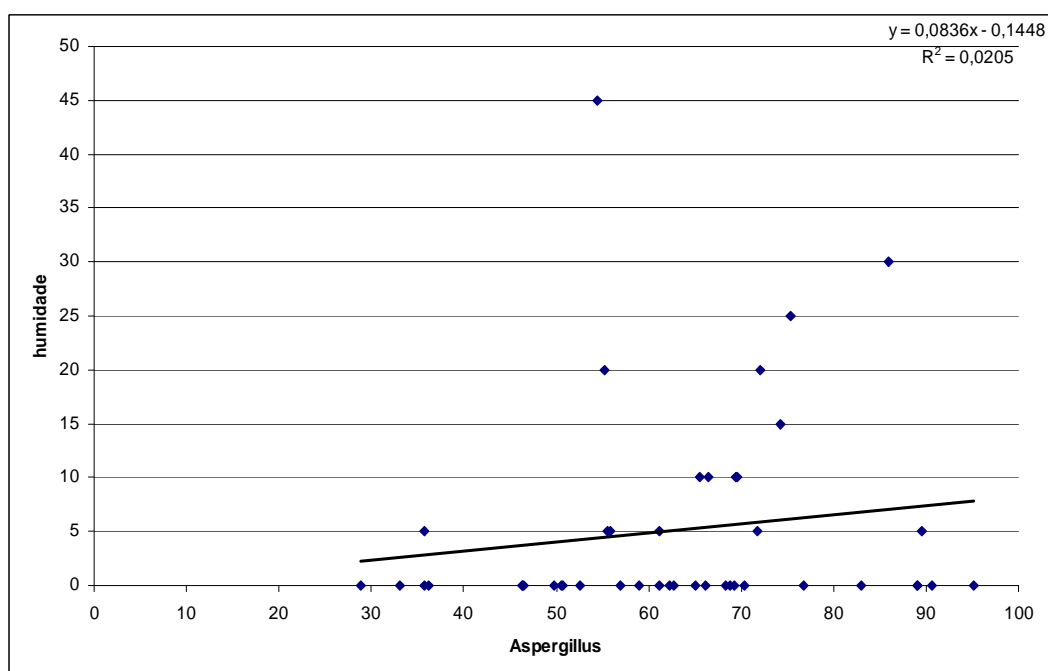


Figura 67 – Influência da humidade relativa nas médias das UFC/m³ do género *Aspergillus*.

5.34 - Contaminação fúngica do ar e ocupantes dos estabelecimentos

Tendo em conta que os próprios utentes e trabalhadores poderão ser uma fonte de contaminação fúngica (Scheff, Paulius e Curtis, 2000), considerou-se pertinente registar o número total de ocupantes nos 10 estabelecimentos, pois todos eles acederam aos balneários e vestiários dos respectivos géneros. Além dessa informação, foi também registado o número de utilizadores que tiveram acesso aos estúdios de treino e às naves das piscinas dos 10 estabelecimentos pertencentes à amostra. Foram obtidos os resultados constantes no Quadro 48.

Quadro 48 – Distribuição dos utilizadores nos dias das avaliações nos 10 estabelecimentos

Local	Total de utilizadores	Estúdio	Nave Piscina
Estabelecimento 1	771	39	35
Estabelecimento 2	1072	105	106
Estabelecimento 3	650	192	85
Estabelecimento 4	664	91	34
Estabelecimento 5	969	109	43
Estabelecimento 6	611	124	33
Estabelecimento 7	460	36	30
Estabelecimento 8	676	106	53
Estabelecimento 9	101	35	38
Estabelecimento 10	670	86	72
Totais	6644	923	529

O número máximo de ocupantes no dia das avaliações foi de 1.072 e o mínimo 101. No caso dos estúdios, o máximo foi de 192 e o mínimo 35. Em relação às naves das piscinas, o máximo foi de 106 e o mínimo 30. Verificou-se ainda, como número máximo de trabalhadores nos estabelecimentos pertencentes à amostra, 55 trabalhadores e, como número mínimo, 23 trabalhadores. A média de trabalhadores nos 10 estabelecimentos foi de 39.

Foi analisada a influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos estabelecimentos nas médias das UFC/m³, de cada um dos estabelecimentos monitorizados,

tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 68. Neste caso, o número de ocupantes contribui somente em 24,27% para a explicação da variação das UFC/m³.

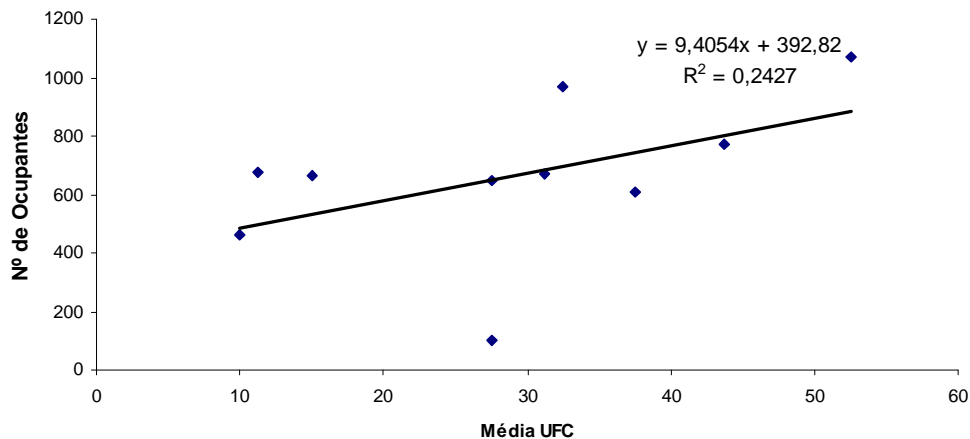


Figura 68 – Influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos 10 estabelecimentos nas médias das UFC/m³.

5.35 - Contaminação fúngica das superfícies e variáveis ambientais

5.35.1 - Resultados dos dez estabelecimentos

Quanto aos resultados sobre a influência das variáveis ambientais avaliadas, verificou-se que a relação entre a contaminação fúngica e a temperatura e humidade relativa não é estatisticamente significativa ($p>0,05$). Como exemplo dos resultados obtidos, apresentam-se nas Figuras 69 e 70 a influência da temperatura e humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.

Neste caso, a temperatura contribui somente em 7,52% para a explicação da variação das UFC/m², em que por cada °C a mais há um aumento de 0,0877 nas UFC/m² e a humidade relativa contribui somente em 5,07% para a explicação da variação das UFC/m², em que por cada unidade a mais de humidade relativa há um aumento de 0,4925 nas UFC/m².

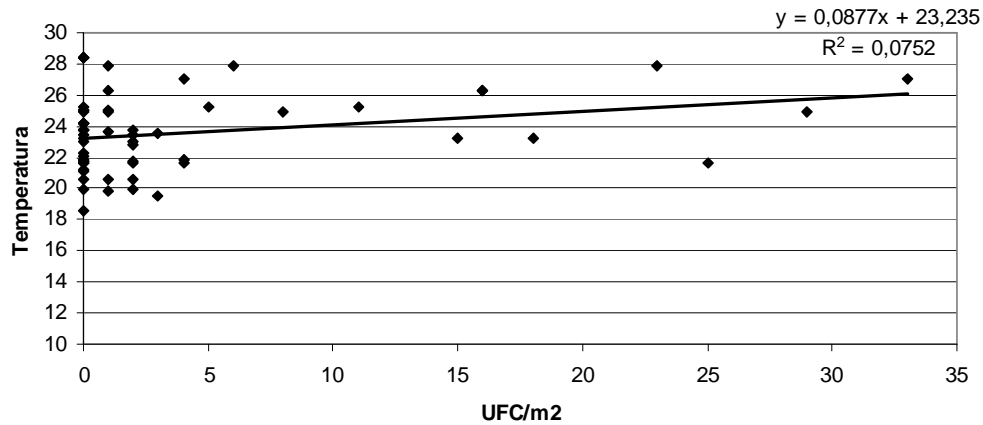


Figura 69 – Influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.

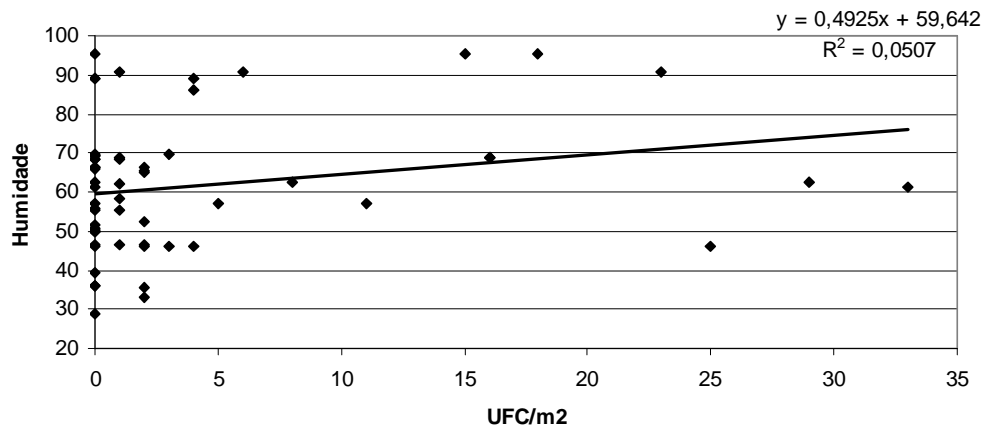


Figura 70 – Influência da humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.

5.35.1.1 - Contaminação fúngica das superfícies e influência conjunta das variáveis ambientais

Quanto aos resultados sobre a influência conjunta das variáveis ambientais avaliadas, verificou-se que a relação entre a contaminação fúngica (fungos filamentosos e leveduriformes) e a temperatura e humidade relativa não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Como exemplo dos resultados obtidos apresentam-se nas Figuras 71, 72 e 73 os diagramas de dispersão que ilustram a relação (muito fraca) das variáveis ambientais (temperatura, humidade relativa e a associação entre temperatura e humidade relativa) com as UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção das superfícies.

Como se pode verificar, a temperatura contribui somente em 7,52% para a explicação da variação das UFC/m², em que por cada °C a mais há um aumento de 0,8572 nas UFC/m² e a humidade relativa contribui somente em 5,07% para a explicação da variação das UFC/m², em que por cada unidade a mais de humidade relativa há um aumento de 0,103 nas UFC/m². Quanto à associação entre temperatura e humidade relativa (influência conjunta), esta contribui somente em 9,09% para a explicação da variação das UFC/m², em que pelo aumento de uma unidade na temperatura e na humidade relativa há um aumento de 0,005 nas UFC/m².

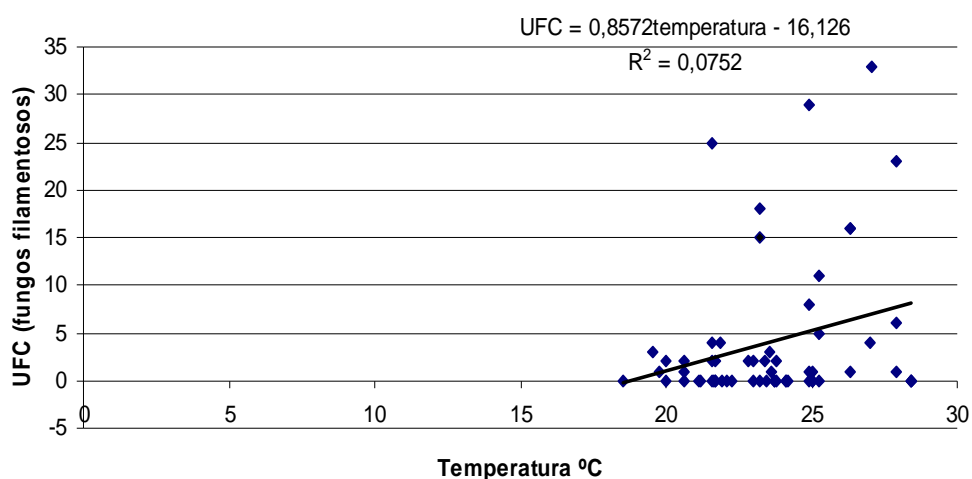


Figura 71 – Influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.

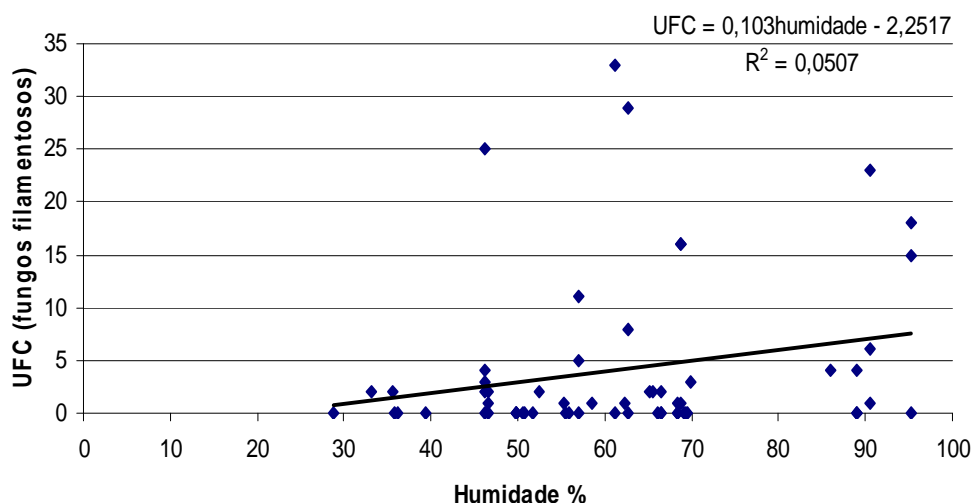


Figura 72 – Influência da humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.

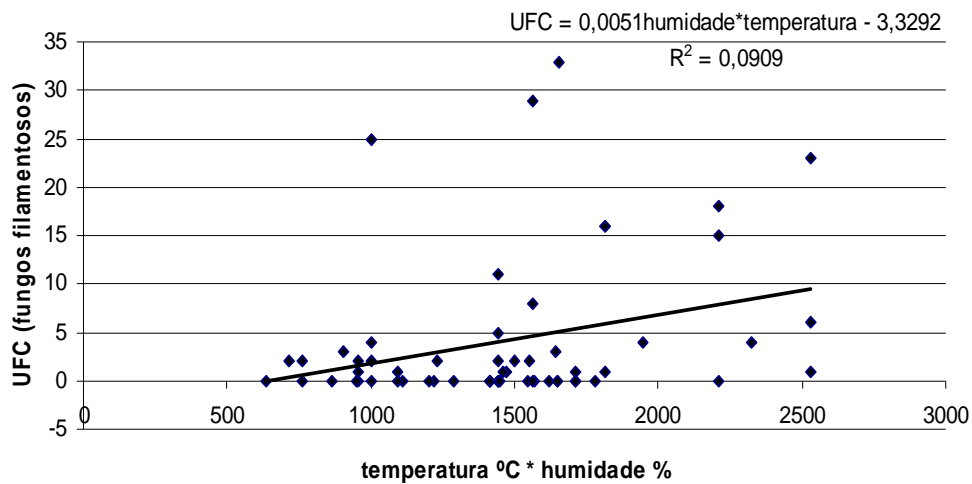


Figura 73 – Influência da associação entre temperatura e humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção.

5.35.2 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Verão

Antes da lavagem e desinfecção foi analisada a influência da temperatura nas UFC/m², tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$), como se evidencia na Figura 74. Neste caso, a temperatura contribui somente em 2,9% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

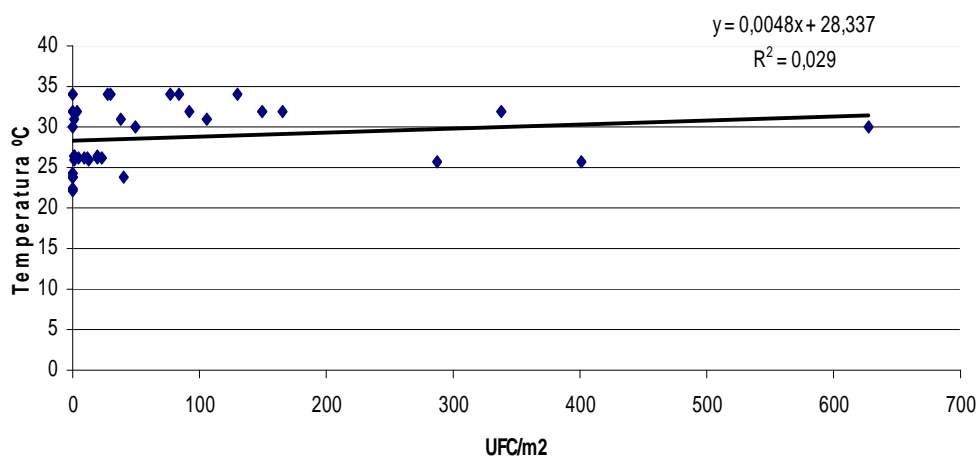


Figura 74 – Influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.

Foi analisada a influência da humidade relativa nas UFC/m² ALD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 75. Neste caso, a humidade relativa contribui somente em 7,63% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

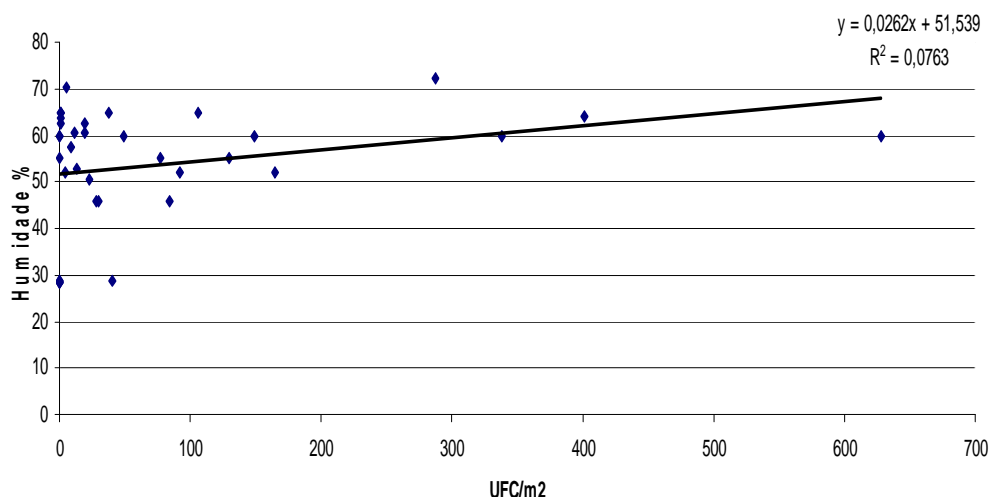


Figura 75 – Influência da humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.

Depois da lavagem e desinfecção foi analisada a influência da temperatura nas UFC/m² DLD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 76. Neste caso, a temperatura contribui em 29,01% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

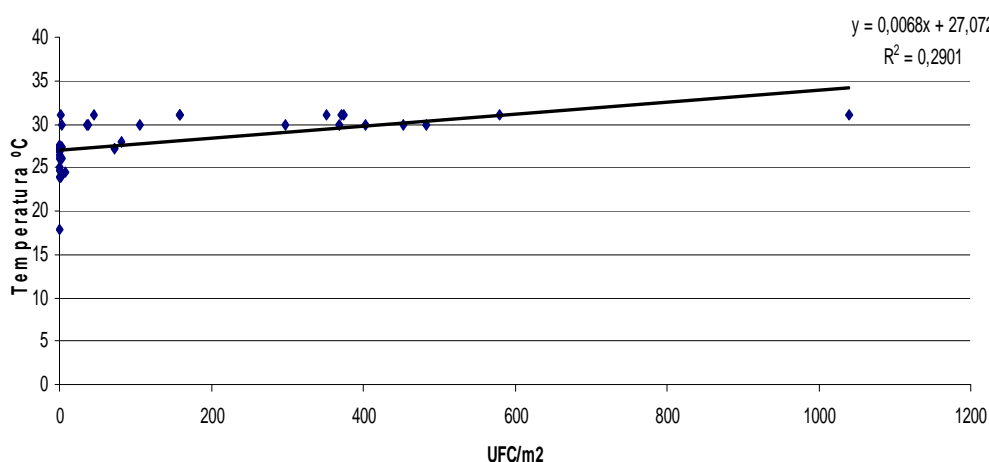


Figura 76 – Influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.

Foi analisada a influência da humidade relativa nas UFC/m² DLD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 77. Neste caso, a humidade relativa contribui somente em 16,3% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

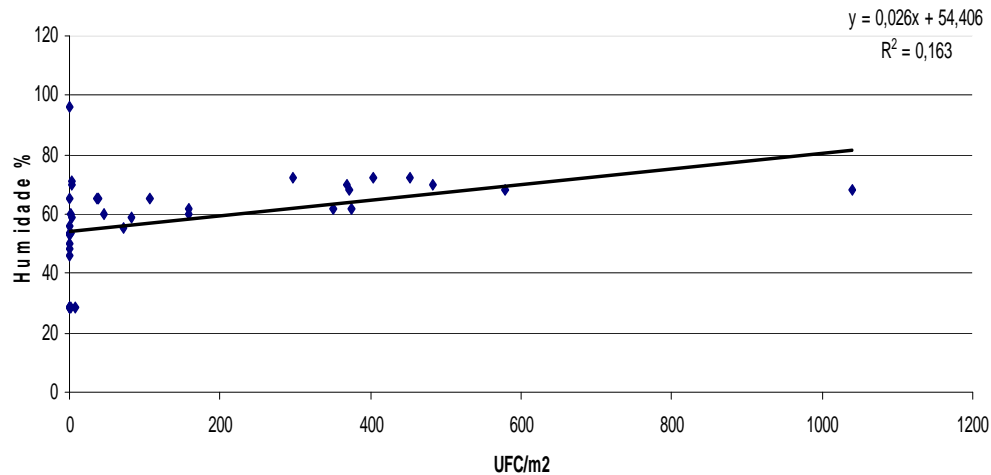


Figura 77 – Influência da humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Verão.

5.35.3 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Inverno

Antes da lavagem e desinfecção foi analisada a influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 78. Neste caso, a temperatura contribui somente em 9,15% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

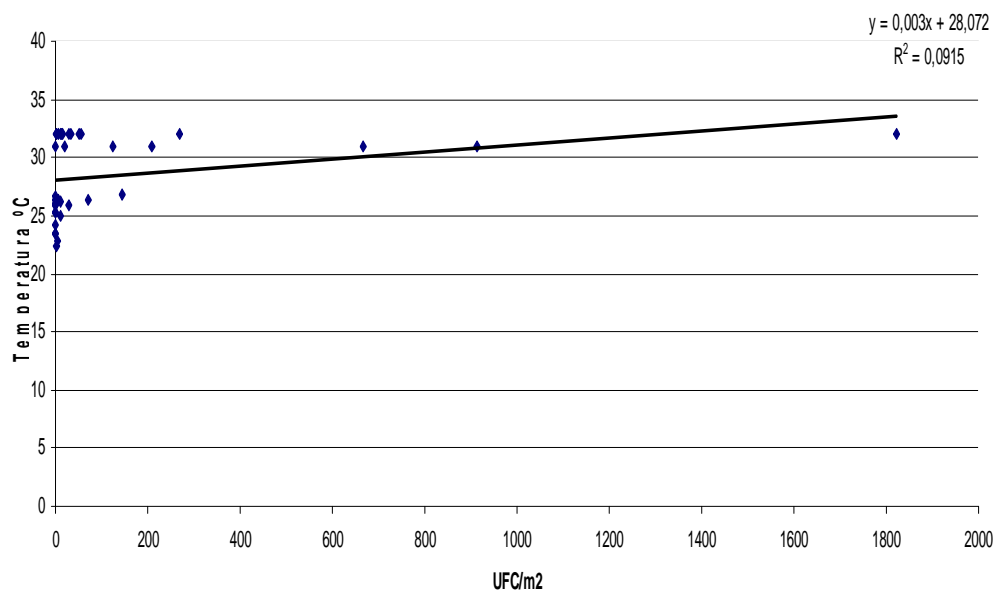


Figura 78 – Influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.

Foi também analisada a influência da humidade relativa nas UFC/m² ALD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$), como se evidencia na Figura 79. Neste caso, a humidade relativa contribui somente em 3,17% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

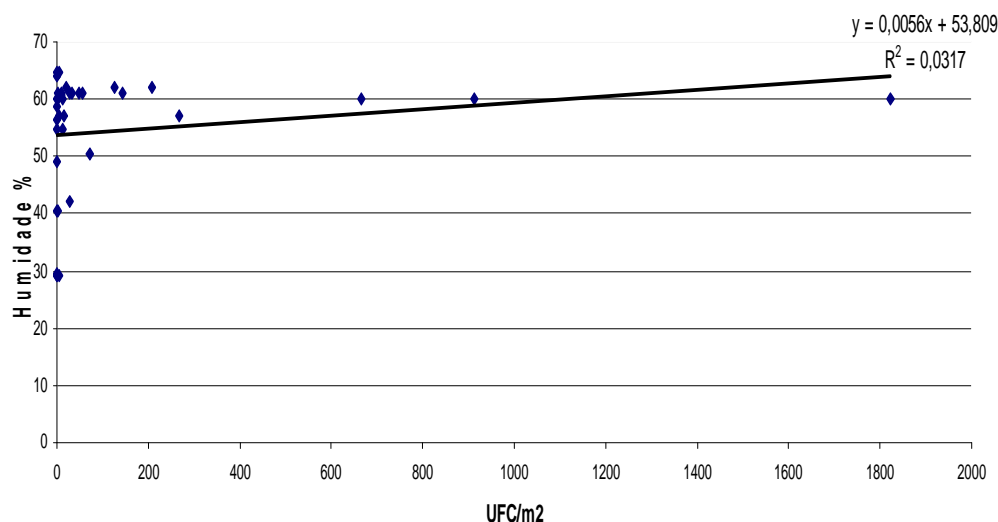


Figura 79 – Influência da humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos antes da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.

Depois da lavagem e desinfecção foi analisada a influência da temperatura nas UFC/m², tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 80. Neste caso, a temperatura contribui somente em 14,41% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

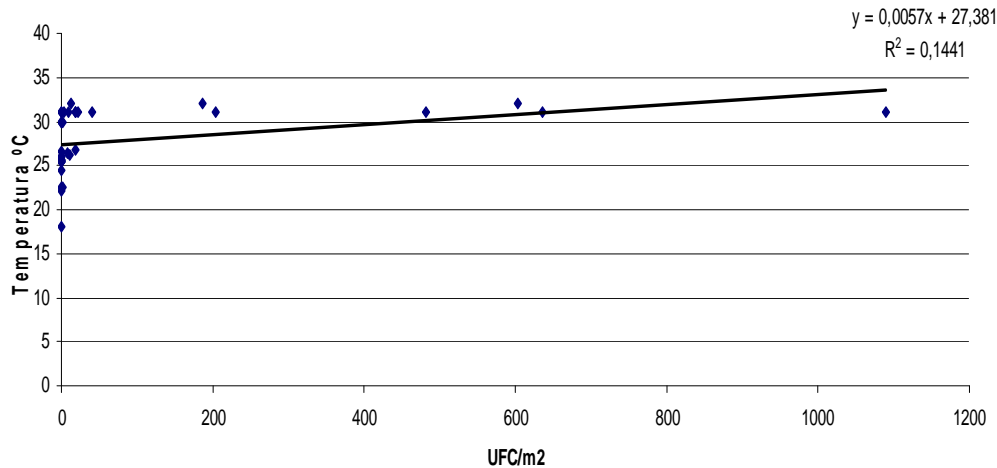


Figura 80 – Influência da temperatura nas UFC/m² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.

Foi analisada a influência da humidade relativa nas UFC/m² DLD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p>0,05$), como se evidencia na Figura 81. Neste caso, a humidade relativa contribui somente em 9,32% para a explicação da variação das UFC/m² de fungos filamentosos.

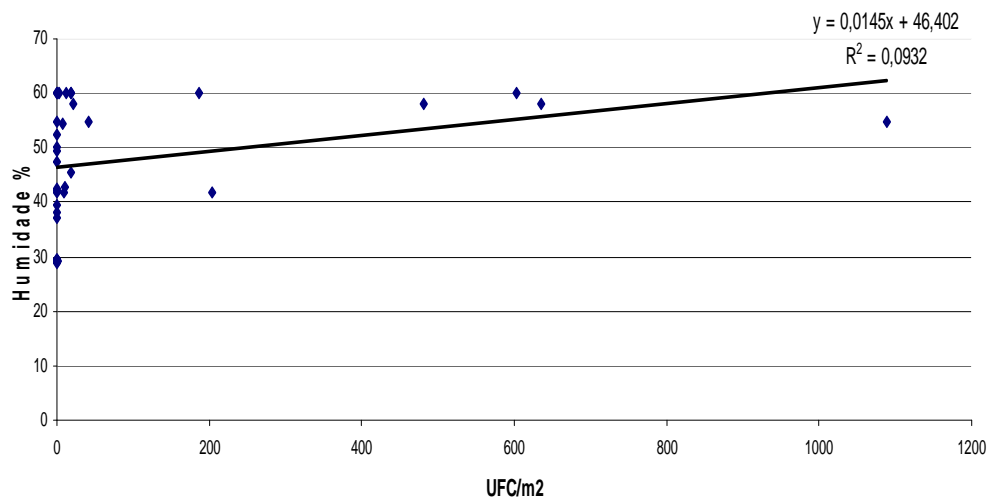


Figura 81 – Influência da humidade relativa nas UFC/m² de fungos filamentosos depois da lavagem e desinfecção no estabelecimento monitorizado no Inverno.

5.36 - Contaminação fúngica das superfícies e ocupantes dos estabelecimentos

5.36.1 - Resultados dos dez estabelecimentos

À semelhança do que se fez em relação à contaminação fúngica do ar, foi analisada a influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos estabelecimentos e as médias das UFC/m² antes da lavagem e desinfecção de cada um dos estabelecimentos monitorizados, tendo-se verificado que a relação é estatisticamente significativa ($p < 0,05$) como se evidencia na Figura 82. Neste caso, o número de ocupantes contribui em 65,31% para a explicação da variação das UFC/m².

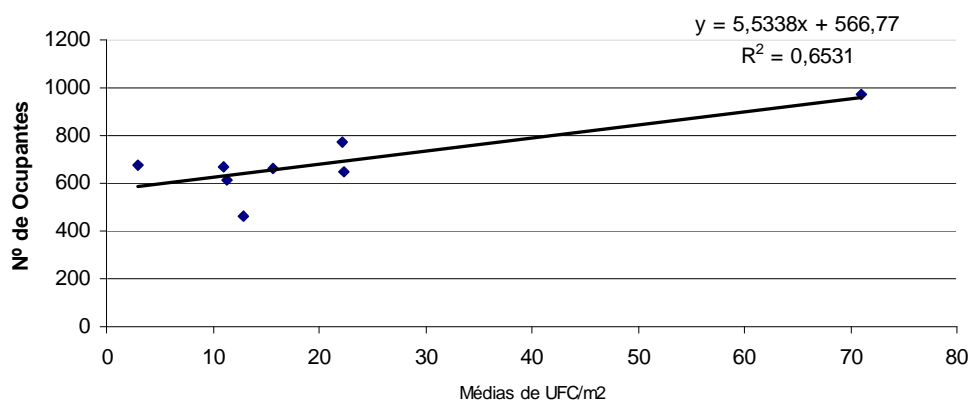


Figura 82 – Influência do número de ocupantes que frequentaram cada um dos 10 estabelecimentos e as médias das UFC/m² antes da lavagem e desinfecção.

5.36.2 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Verão

Foi analisada a influência do número de ocupantes nas médias de UFC/m² ALD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$), como se evidencia na Figura 83. Neste caso, o número de ocupantes contribui somente em 6,84% para a explicação da variação das UFC/m².

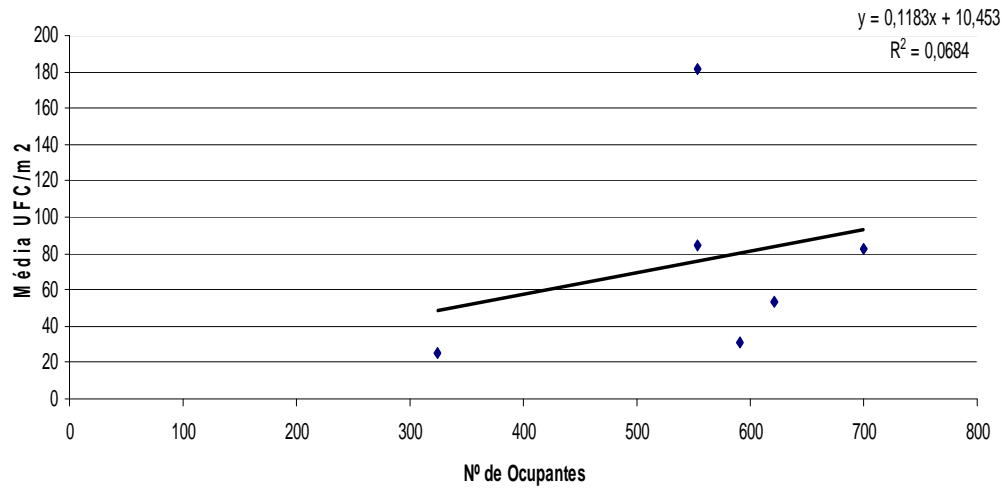


Figura 83 – Influência do número de ocupantes que frequentaram o estabelecimento no Verão e as médias das UFC/m² antes da lavagem e desinfecção.

5.36.3 - Resultados do estabelecimento monitorizado no Inverno

Foi também analisada a influência do número de ocupantes nas médias UFC/m² ALD, tendo-se verificado que a relação não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$), como se evidencia na Figura 84. Neste caso, existe uma correlação negativa, ou seja, quanto menor o número dos ocupantes maiores as médias das UFC/m².

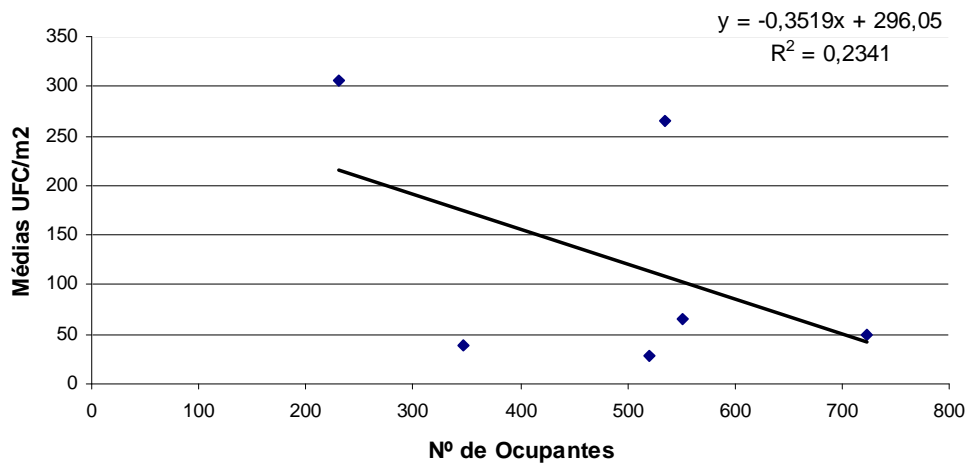


Figura 84 – Influência do número de ocupantes que frequentaram o estabelecimento monitorizado no Inverno e as médias das UFC/m² antes da lavagem e desinfecção.

5.37 - Contaminação fúngica do ar e contaminação fúngica das superfícies

Analisou-se a possibilidade, em relação à avaliação quantitativa, da contaminação fúngica do ar influenciar a contaminação fúngica das superfícies. No entanto, não foram contabilizados os resultados do exterior no caso das avaliações do ar e os resultados das escadas no caso das monitorizações das superfícies, pois não foram obtidos resultados inerentes à contaminação do ar nesse local.

Verificou-se que a relação entre a contaminação fúngica do ar e a contaminação fúngica das superfícies é bastante fraca ($r=-0,138$) e não é estatisticamente significativa ($p>0,05$). Neste caso, a contaminação fúngica do ar só contribui 1,91% para a contaminação fúngica das superfícies ou vice-versa, como se evidencia na Figura 85.

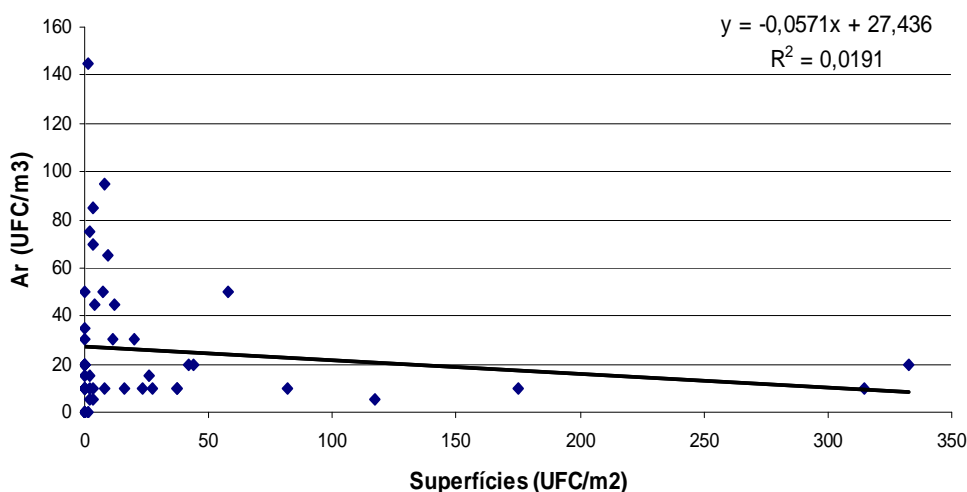


Figura 85 – Influência da contaminação fúngica do ar na contaminação fúngica das superfícies.

Analisou-se também se existiam diferenças estatisticamente significativas entre a contaminação fúngica das superfícies e a do ar. Para o efeito, procedeu-se à aplicação do teste de Wilcoxon, como nos estudos realizados por Koch, Heilemann e Bischof (2000), Perez, Zimmerman e Berhane (2006) e Rodrigues e Araújo (2007), a partir do qual se concluiu que existem diferenças significativas, para um nível de significância de 10% ($p<0,1$). Nos Quadros 49 e 50 apresentam-se os resultados obtidos.

Quadros 49 e 50 – Aplicação do teste de Wilcoxon sobre a contaminação fúngica do ar e a das superfícies

	N	Média das Ordens	Total das Ordens
UFC/ m ³ < UFC/m ²	15	26,73	401,00
UFC/m ³ > UFC/m ²	32	22,72	727,00
UFC/m ³ = UFC/m ²	3	-	-
Total	50	-	-

	UFC/m ³ - UFC /m ²
Z	-1,726 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,084^b

^aBaseado nas ordens negativas

^bTeste de Wilcoxon

No Quadro 51 apresentam-se os valores da mediana e do intervalo interquartis que indicam que 50% dos valores mais baixos são superiores na contaminação fúngica do ar (10 UFC/m³ contra 3 UFC/m²). A contaminação fúngica das superfícies apresentou maior variabilidade em 50% dos valores centrais (23,75 UFC/m² contra 21,25 UFC/m³).

Quadro 51 – Mediana e intervalo interquartis da contaminação fúngica do ar e a das superfícies

	Mediana	Intervalo Interquartis
UFC/m ²	3	23,75
UFC/m ³	10	21,25

A Figura 86 compara a contaminação fúngica das superfícies com a contaminação fúngica do ar, podendo verificar-se que, além da presença de *outliers* em ambos os conjuntos de dados, a contaminação fúngica das superfícies apresentou maior variabilidade.

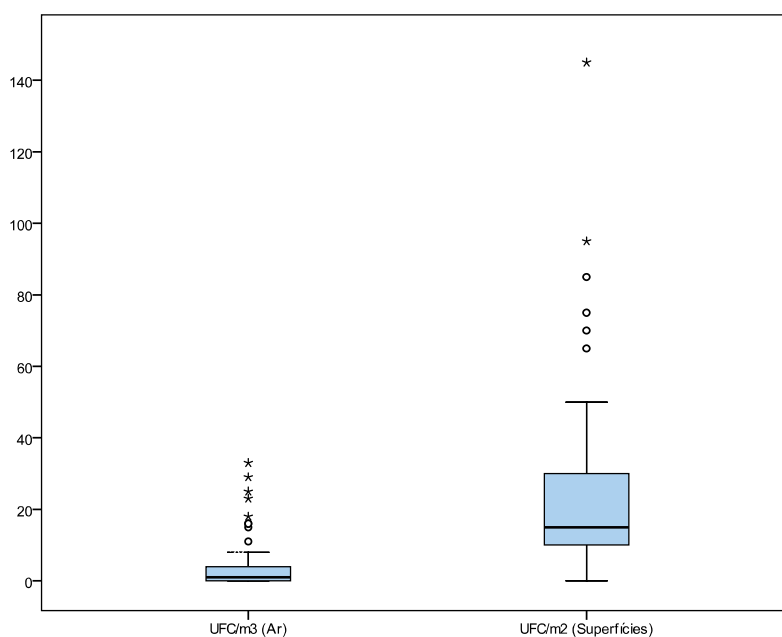


Figura 86 – Comparação da contaminação fúngica do ar com a contaminação fúngica das superfícies.

5.38 - Comparação da contaminação fúngica das superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção

Na comparação quantitativa entre as UFC/m² dos fungos isolados, antes e depois da lavagem e desinfecção das superfícies, constatou-se que em 5 dos 60 locais monitorizados não foram isolados fungos. Além disso, dos 55 locais onde se isolaram fungos, 26 locais (47,3%) apresentaram maior número de UFC/m² DLD e 23 locais (41,8%) evidenciaram maior número de UFC/m² antes desses procedimentos. Em 6 (10,9%) dos locais não houve alteração do número de UFC/m². Foi possível também verificar que foram isoladas mais UFC/m² de fungos leveduriformes do que de fungos filamentosos antes e depois da lavagem e desinfecção.

Considerando os resultados apresentados no Quadro 52, onde constam as médias e os desvios padrão (estes últimos muito elevados, o que indica uma grande variabilidade) dos fungos filamentosos e dos fungos leveduriformes antes e depois da lavagem e desinfecção, é possível verificar que relativamente aos fungos filamentosos apenas nos balneários e vestiários masculinos e no estúdio ocorreu redução de fungos filamentosos, apesar de não ser significativa. Em relação aos fungos leveduriformes verificou-se uma redução significativa nos balneários e vestiários masculinos e nos balneários e vestiários femininos. Junto ao tanque principal também se verificou redução, mas não foi significativa, como se apresenta no Quadro 53.

Quadro 52 – Média e desvio padrão dos resultados referentes à contaminação fúngica

Local de colheita	Fungos filamentosos ALD		Fungos filamentosos DLD		Fungos leveduriformes ALD		Fungos leveduriformes DLD	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
Balneários e vestiários masculinos	5,000	9,944	3,700	8,341	12,560	18,139	0,220	0,667
Balneários e vestiários femininos	0,300	0,675	1,200	3,458	2,780	5,333	0,330	1,000
Escadas de acesso	1,400	1,776	5,400	5,317	13,250	27,644	14,630	28,208
Junto tanque principal	7,000	8,902	12,110	13,242	71,880	108,137	63,750	104,284
Junto <i>jacuzzi</i>	10,700	10,863	15,100	12,565	18,330	29,745	27,330	26,622
Estúdio	0,700	1,160	0,300	0,675	0,000	0,000	0,000	0,000

Legenda: Valores a negrito significam locais onde se verificou diminuição da contaminação fúngica

Para comparar a contaminação fúngica entre antes e depois da lavagem e desinfecção em cada local de colheita dos 10 estabelecimentos foi aplicado o teste de Wilcoxon, tendo sido obtidos os resultados que se apresentam no Quadro 53.

Quadro 53 – Resultados da aplicação do teste de Wilcoxon

Local de colheita	Fungos filamentosos		Fungos leveduriformes	
	z	p	z	p
Balneários e vestiários masculinos	-1,442	0,075	-2,201	0,014
Balneários e vestiários femininos	-0,184	0,42	-1,214	0,011
Escadas de acesso	-2,018	0,022	-0,105	0,458
Junto tanque principal	-1,521	0,064	-0,365	0,357
Junto <i>jacuzzi</i>	-2,035	0,021	-0,980	0,164
Estúdio	-1,300	0,097	0,000	0,5

Legenda: Valores a negrito significam diferenças significativas ao nível de significância de 5%.

Com os resultados apresentados no Quadro 53 pode afirmar-se que ocorreu alteração estatisticamente significativa entre antes e depois da lavagem e desinfecção na quantidade de fungos filamentosos nas escadas de acesso à zona envolvente à piscina ($p=0,0444 < \alpha=0,05$) e

junto ao *jacuzzi* ($p=0,042 < \alpha=0,05$) e na quantidade de fungos leveduriformes nos balneários e vestiários masculinos ($p=0,028 < \alpha=0,05$).

Foi possível também verificar, tendo em conta as médias de fungos filamentosos e de fungos leveduriformes nas superfícies dos diferentes locais, que junto ao *jacuzzi* foi o local que apresentou maior média de fungos filamentosos e que junto ao tanque principal foi o local com maior média de fungos leveduriformes.

5.39 - Comparação da contaminação fúngica das superfícies do estabelecimento monitorizado no Verão e no Inverno

Foram utilizados as medianas (\bar{x}) e os intervalos interquartis (IIQ) em detrimento das médias e dos desvios padrão, pois verificou-se elevado número de *outliers*. Além do total de UFC/m², foram também comparadas isoladamente as UFC/m² de fungos filamentosos e de fungos leveduriformes.

5.39.1 - Diferenças significativas entre antes e depois da lavagem e desinfecção

Considerando os resultados presentes nos Quadros 54 e 55 apresentados como exemplo, onde constam as medianas, os intervalos interquartis e os resultados da aplicação do teste de Wilcoxon (significância de 5%) do total de UFC/m² antes e depois da lavagem e desinfecção durante o Verão e o Inverno e a comparação realizada também para as UFC/m² de fungos filamentosos e de fungos leveduriformes, foi possível verificar que ocorreu alteração estatisticamente significativa entre antes e depois da lavagem e desinfecção no total de UFC/m² nas escadas de acesso no Inverno ($p=0,028 < \alpha=0,05$), nos balneários e vestiários masculinos no Verão ($p=0,028 < \alpha=0,05$) e junto ao tanque principal e *jacuzzi* ambos no Verão ($p=0,046 < \alpha=0,05$) e ainda nas UFC/m² de fungos leveduriformes nos balneários e vestiários masculinos no Inverno ($p=0,028 < \alpha=0,05$). No entanto, apenas ocorreu redução da contaminação fúngica DLD nas escadas de acesso no Inverno e nos balneários e vestiários masculinos no Verão e em relação apenas ao total de UFC/m².

Quadro 54 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m²) antes e depois da lavagem e desinfecção durante o Verão

Local de colheita	ALD		DLD		Teste de Wilcoxon (p value)
	\bar{x}	IIQ	\bar{x}	IIQ	
Balneários e vestiários masculinos	14,0	311,5	1,0	20,25	0,028
Balneários e vestiários femininos	12,0	19,0	0,0	22,75	0,344
Escadas de acesso	116,5	213,5	132,5	333,0	0,917
Junto tanque principal	99,0	137,75	373,5	331,75	0,046
Junto <i>jacuzzi</i>	0,5	10,0	359,5	534,75	0,046
Estúdio	0,0	10,0	0,0	2,5	1,0

Legenda: Valores a negrito significam locais onde se verificou diminuição da contaminação fúngica DLD

\bar{x} - Mediana

IIQ – Intervalo Interquartis

Quadro 55 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m²) antes e depois da lavagem e desinfecção durante o Inverno

Local de colheita	ALD		DLD		Teste de Wilcoxon (p value)
	\bar{x}	IIQ	\bar{x}	IIQ	
Balneários e vestiários masculinos	0,0	16,0	0,0	0,0	0,180
Balneários e vestiários femininos	8,5	88,25	3,5	13,0	0,340
Escadas de acesso	90,5	925,5	17	56,5	0,028
Junto tanque principal	129,0	405,0	102,5	748,5	0,917
Junto <i>jacuzzi</i>	4,0	11,75	14,0	512,25	0,225
Estúdio	0,5	2,75	0,0	0,25	0,109

Legenda: Valores a negrito significam locais onde se verificou diminuição da contaminação fúngica DLD

\bar{x} - Mediana

IIQ – Intervalo Interquartis

5.39.2 - Diferenças significativas entre o Verão e o Inverno

Considerando os resultados presentes nos Quadros 56 e 57 apresentados como exemplo, onde constam as medianas, os intervalos interquartis e os resultados da aplicação do teste de Wilcoxon (significância de 5%) do total de UFC/m² no Verão e no Inverno antes e depois da lavagem e desinfecção e a comparação realizada também para as UFC/m² de fungos

filamentosos e fungos leveduriformes, foi possível verificar que ocorreu alteração estatisticamente significativa entre o Verão e o Inverno nos seguintes locais e fungos:

- Escadas de acesso em relação aos fungos filamentosos ALD ($p=0,027<\alpha=0,05$) e DLD ($p=0,028<\alpha=0,05$) e nos fungos leveduriformes ALD e DLD ($p=0,028<\alpha=0,05$);
- Balneários e vestiários masculinos em relação ao total de UFC/m² ALD ($p=0,028<\alpha=0,05$) e aos fungos leveduriformes DLD ($p=0,027<\alpha=0,05$);
- Junto ao tanque principal em relação aos fungos filamentosos DLD ($p=0,028<\alpha=0,05$) e aos fungos leveduriformes ALD e DLD ($p=0,028<\alpha=0,05$);
- Junto ao *jacuzzi* em relação aos fungos filamentosos DLD ($p=0,046<\alpha=0,05$) e aos fungos leveduriformes ALD ($p=0,042<\alpha=0,05$).

Em quase todas as situações enunciadas se verificou um aumento de UFC/m² no Inverno, com excepção do total de UFC/m² ALD nos balneários e vestiários masculinos que aumentaram no Verão.

Quadro 56 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m²) no Verão e Inverno antes da lavagem e desinfecção

Local de colheita	Verão		Inverno		Teste de Wilcoxon (<i>p value</i>)
	\bar{x}	IIQ	\bar{x}	IIQ	
Balneários e vestiários masculinos	14,0	311,5	0,0	16,0	0,028
Balneários e vestiários femininos	12,0	19,0	8,5	88,25	0,528
Escadas de acesso	116,5	213,5	90,5	925,5	0,753
Junto tanque principal	99,0	137,75	129,0	405,0	0,674
Junto <i>jacuzzi</i>	0,5	10,0	4,0	11,75	0,500
Estúdio	0,0	10,0	0,5	2,75	1,0

Legenda: Valor a negrito significa local onde se verificou alteração estatisticamente significativa da contaminação fúngica

\bar{x} - Mediana

IIQ – Intervalo Interquartis

Quadro 57 – Resultados referentes à contaminação fúngica (total de UFC/m²) no Verão e Invernodepois da lavem e desinfecção

Local de colheita	Verão		Inverno		Teste de Wilcoxon (<i>p value</i>)
	\bar{x}	IIQ	\bar{x}	IIQ	
Balneários e vestiários masculinos	1,0	20,25	0,0	0,0	0,109
Balneários e vestiários femininos	0,0	22,75	3,5	13,0	0,715
Escadas de acesso	132,5	333,0	17,0	56,5	0,207
Junto tanque principal	373,5	331,75	102,5	748,5	0,600
Junto <i>jacuzzi</i>	339,5	534,75	14,0	512,25	0,173
Estúdio	0,0	2,5	0,0	0,25	0,414

\bar{x} - Mediana

IIQ – Intervalo Interquartis

6 – Aplicação de método para estimar o risco de infecção fúngica cutânea para os trabalhadores através das superfícies

O Risco de Infecção Fúngica através das superfícies pode ser quantificado por:

$$\text{Risco de Infecção Fúngica Cutânea} = \text{Probabilidade} \times \text{Gravidade}$$

De acordo com esta definição, o risco varia na proporção directa da sua probabilidade de ocorrência e da gravidade das suas consequências.

Em relação ao critério da Gravidade considerou-se que a gravidade da lesão está intimamente relacionada com o fungo envolvido, como se constata no anteriormente apresentado Quadro 7.

Quadro 7 – Níveis de gravidade

Níveis de gravidade	Fungos isolados
0. Nula	Resultado Negativo
1. Moderado	FFND e Leveduras
2. Considerável	Fungos Patogénicos (Dermatófitos)

Para o cálculo da Probabilidade foi considerado o produto entre a Frequência e a Exposição, tendo em conta que a frequência e a exposição, a um determinado factor de risco, condicionam a probabilidade da consequência vir a ocorrer, ou seja:

$$\text{Probabilidade} = \text{Frequência} \times \text{Exposição}$$

No caso da **Frequência**, esta foi estabelecida tendo em conta a frequência de isolamento de fungos nas superfícies. Tendo em conta que o valor mínimo dos valores médios obtidos foi de 2,6 UFC/m², aproximadamente 3 UFC/m², e que o valor de média obtido das médias foi de 26,77 UFC/m², aproximadamente 27 UFC/m², os intervalos de frequência estabelecidos foram os constantes no Quadro 8, também previamente apresentado.

Quadro 8 – Níveis de frequência

Níveis de frequência	UFC/m ²
1. Mínima	≤ 3
2. Média	$3 > X \geq 27$
3. Elevada	> 27

Em relação à **Exposição** foram estabelecidos intervalos para agrupar as horas semanais de trabalho dispendidas na actividade profissional em causa, como se constata no anteriormente apresentado Quadro 9.

Quadro 9 – Níveis de exposição

Níveis de exposição	Horas/semana
1. Mínima	< 15
2. Média	$[15 \text{ a } 30[$
3. Elevada	≥ 30

Foram estipulados 3 níveis de risco de acordo com os resultados obtidos, como se apresenta no Quadro 58. Os cálculos foram efectuados, em relação aos níveis de exposição, considerando sempre o Nível de Exposição Elevado (≥ 30 horas semanais de trabalho), pois foi o intervalo mais seleccionado pelos trabalhadores que constituem a amostra.

Quadro 58 – Níveis de Risco

Níveis de Risco	Resultados Obtidos
1. Mínimo	≤ 3
2. Médio	$3 > X > 9$
3. Elevado	≥ 9

6.1 – Resultados do método aplicado aos 10 Estabelecimentos

Tendo em conta que foram realizadas 120 colheitas de superfícies (60 ALD e 60 DLD), foram classificados no Nível de Risco Mínimo 65 locais (54,2%), no Nível de Risco Médio 23 locais (19,2%) e no Nível de Risco Elevado 32 locais (26,6%), como se apresenta na Figura 87.

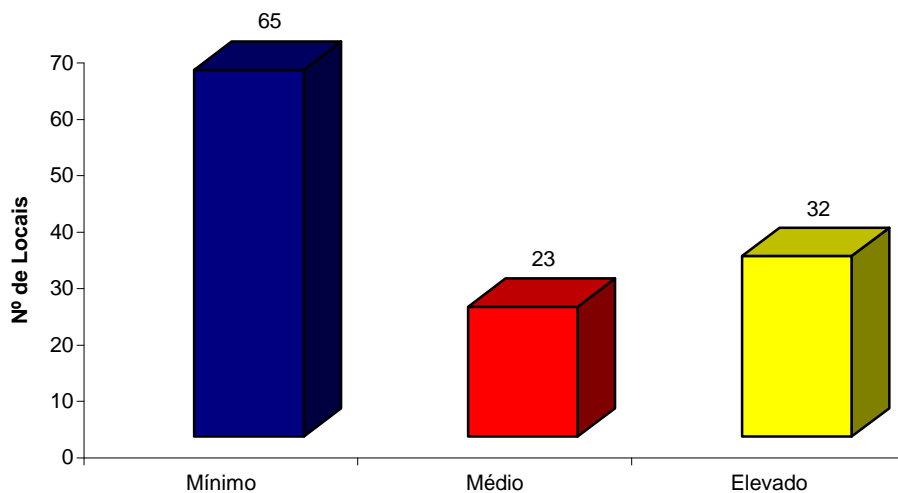


Figura 87 – Número de locais por Nível de Risco.

Em cada estabelecimento foram realizadas 12 colheitas (6 ALD e 6 DLD) em 6 locais diferentes, divergindo a distribuição do número de locais com Nível de Risco Elevado nos

estabelecimentos. Verificou-se que 3 estabelecimentos apresentaram 2 locais com Nível de Risco Elevado, 3 estabelecimentos com 3 locais com Nível de Risco Elevado, 1 estabelecimento com 4 locais com Nível de Risco Elevado, 1 estabelecimento com 6 locais com Nível de Risco Elevado, 1 estabelecimento com 7 locais com Nível de Risco Elevado e apenas 1 estabelecimento não apresentou nenhum local com Nível de Risco Elevado, como se apresenta na Figura 88.

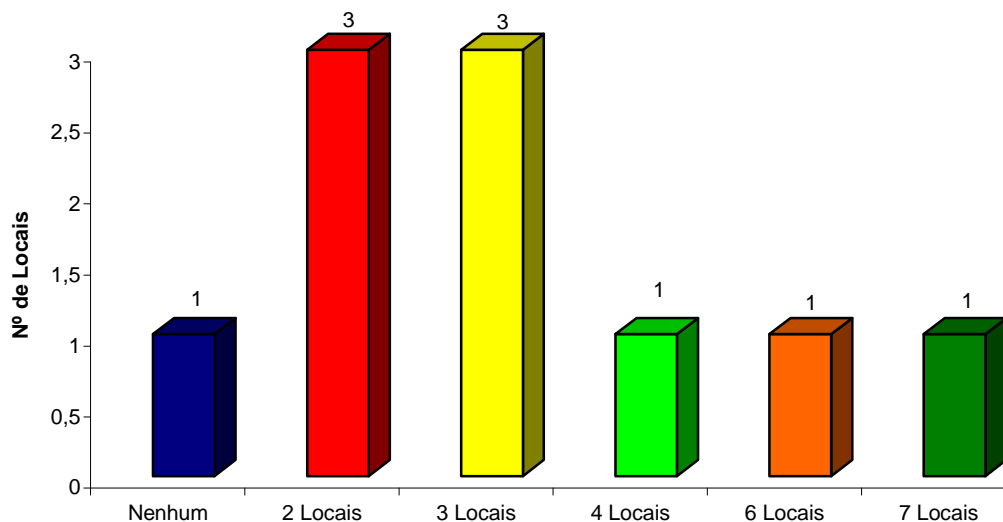


Figura 88 – Número de locais por estabelecimento com Nível de Risco Elevado.

Em relação à distribuição pelos Níveis de Risco, ALD constatou-se maior número de locais classificados no Nível de Risco Médio do que DLD. No entanto, DLD verificou-se maior número de locais classificados no Nível de Risco Elevado, como se apresenta na Figura 89.

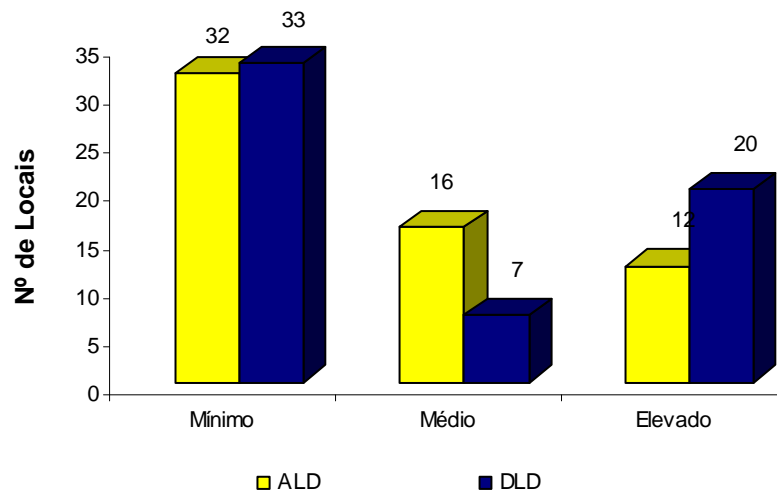


Figura 89 – Número de locais por Nível de Risco antes e depois da lavagem e desinfecção.

Os diferentes locais dos estabelecimentos em que foram realizadas colheitas de superfícies, nomeadamente próximo do tanque, próximo do *jacuzzi*, nas escadas de acesso à zona envolvente à piscina, nos estúdios de treinos onde se realizavam maior número de actividades com pé descalço e nos balneários e vestiários de ambos os géneros (VBF e VBM), apresentaram resultados diferentes em relação à classificação nos Níveis de Risco considerados. Consta-se, através da Figura 90, que nos Estúdios não ocorreu nenhuma classificação de Risco de Infecção Elevado e que próximo do *jacuzzi* e junto ao tanque foram os locais com mais classificações de Risco de Infecção Elevado.

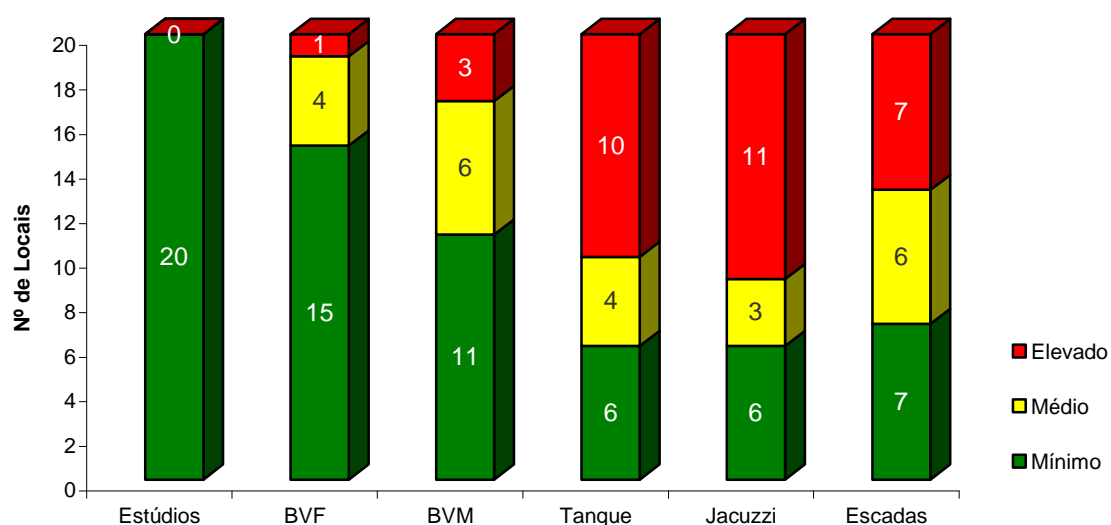


Figura 90 – Resultados relativos à classificação do Nível de Risco nos diferentes locais.

6.2 - Resultados do método aplicado a um estabelecimento no Verão e no Inverno

Foram realizadas durante 2 estações do ano (Verão e Inverno) 6 colheitas a locais diferentes de um único estabelecimento (estúdio, BVF, BVM, tanque, *jacuzzi* e escadas). Na análise dos Níveis de Risco no Verão constatou-se que ALD ocorreu menor número de locais classificados no Nível de Risco Elevado do que DLD, como se pode observar na Figura 91.

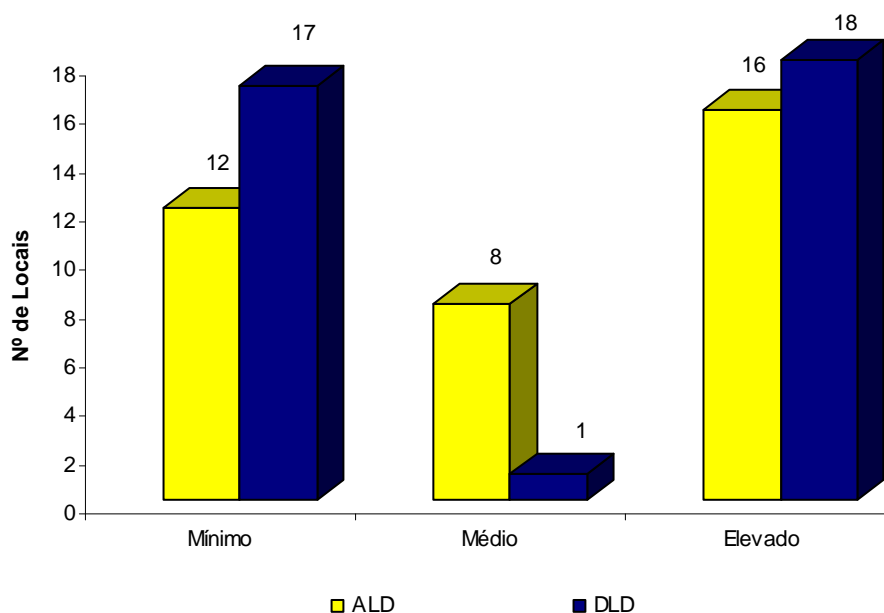


Figura 91 – Número de locais por Nível de Risco antes e depois da lavagem e desinfecção no Verão.

No Inverno verificou-se que ALD ocorreu maior número de locais classificados no Nível de Risco Elevado do que DLD, como se pode observar na Figura 92.

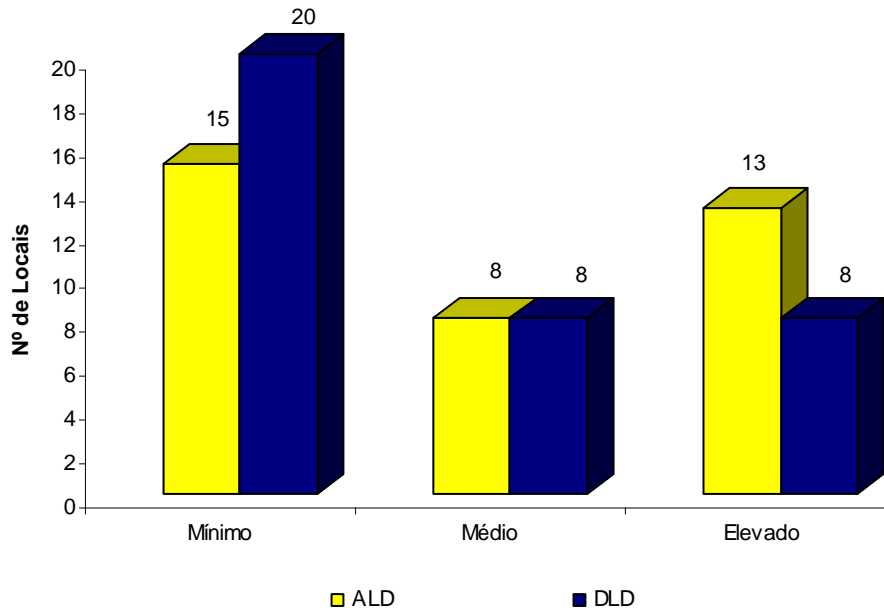


Figura 92 – Número de locais por Nível de Risco antes e depois da lavagem e desinfecção no Inverno.

Os diferentes locais do estabelecimento, durante o Verão e o Inverno, em que foram realizadas colheitas de superfícies, apresentaram resultados diferentes em relação à classificação nos Níveis de Risco considerados. No Verão constatou-se que junto ao tanque todas as classificações foram de Risco de Infecção Elevado, como se pode observar na Figura 93.

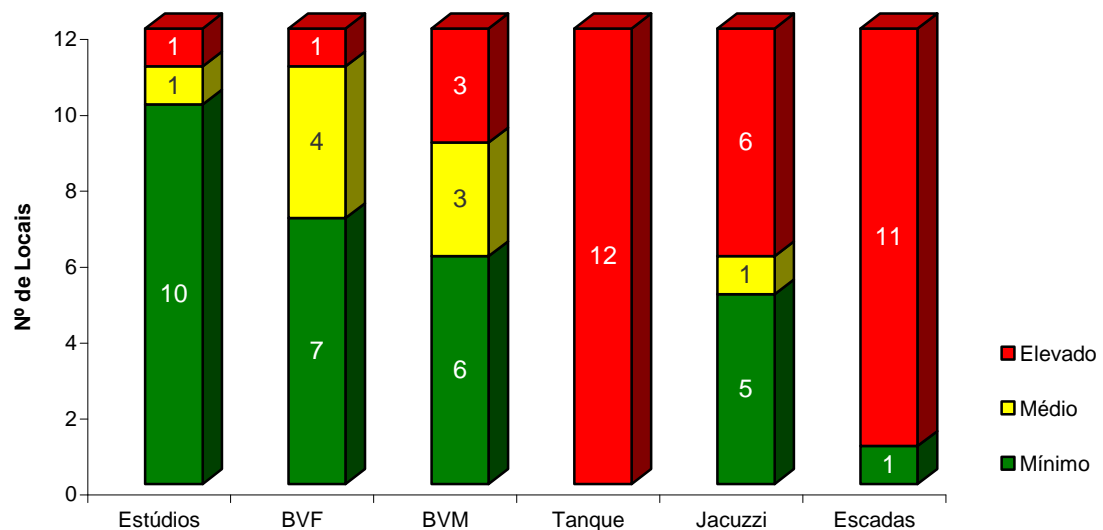


Figura 93 – Resultados relativos à classificação do Nível de Risco nos diferentes locais de um único estabelecimento no Verão.

No Inverno constatou-se que, junto ao tanque, foi também o local que apresentou mais classificações de Risco de Infecção Elevado, como se observa na Figura 94.

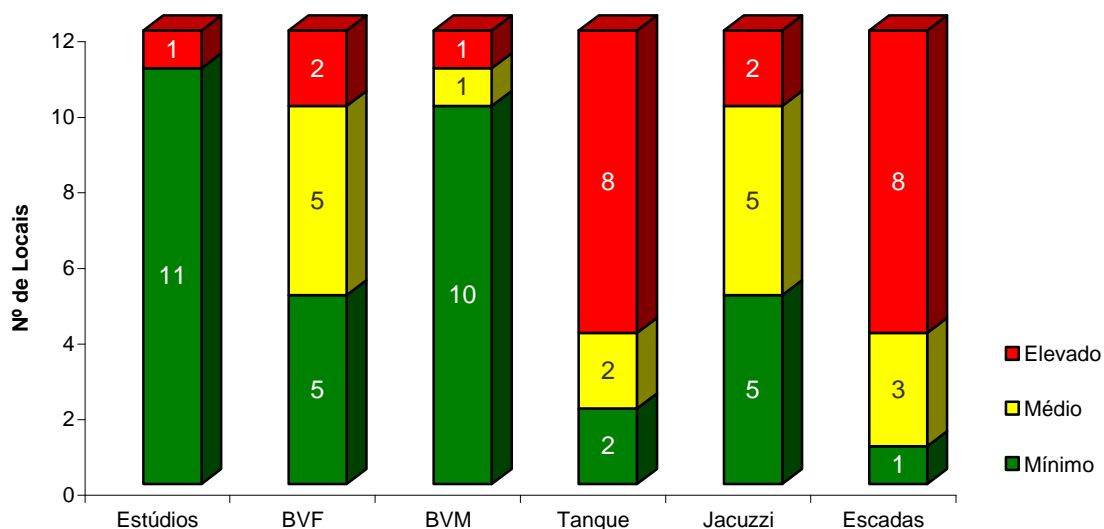


Figura 94 – Resultados relativos à classificação do Nível de Risco nos diferentes locais de um único estabelecimento no Inverno.

7 – Relação entre a contaminação fúngica das superfícies e a infecção fúngica dos trabalhadores

Analisaram-se os resultados referentes aos fungos isolados nas superfícies dos estabelecimentos e nos trabalhadores e verificou-se quais os que foram comumente identificados, como se pode observar no Quadro 59. Dos 33 fungos isolados nos trabalhadores, 10 (30,3%) foram igualmente isolados nas superfícies ALD e 15 (45,5%) foram também isolados DLD. Dos 10 fungos isolados comumente ALD, 4 foram identificados ao nível da espécie e os restantes ao nível do género. Depois da lavagem e desinfecção, dos 15 fungos identificados comumente, 8 foram identificados ao nível da espécie e os restantes ao nível do género.

As Leveduras foram isoladas comumente 18 vezes ALD e 17 vezes DLD, os Dermatófitos foram isolados comumente 3 vezes e apenas DLD e os FFND foram isolados comumente 6 vezes ALD e 8 vezes DLD.

Antes da lavagem e desinfecção, a Levedura que se verificou comumente com maior frequência foi *Rhodotorula* sp. (5 vezes), seguida da espécie *C. parapsilosis* (4 vezes) e o

estabelecimento 9 foi onde se constatarem mais fungos comuns (trabalhadores e ambiente). No total, ALD foram isolados fungos comumente 24 vezes.

Depois da lavagem e desinfecção, *Rhodotorula* sp. e *C. parapsilosis* foram também as Leveduras mais frequentes com a mesma frequência de isolamento (5 vezes). Neste caso, o estabelecimento 1 foi onde se constatarem mais fungos comuns (trabalhadores e ambiente). No total, DLD foram isolados fungos comumente 28 vezes.

Os Dermatófitos, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, apenas foram isolados 3 vezes comumente e sempre DLD. Em relação aos FFND, o gênero *Penicillium* foi o mais frequentemente isolado comumente ALD (3 vezes), enquanto que DLD foram os gêneros *Penicillium* e *Fusarium*.

Quadro 59 – Fungos isolados comumente nas superfícies dos ginásios com piscina e nos trabalhadores

Fungos isolados nos trabalhadores	Ginásios com piscina									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>T..rubrum</i>		x								
<i>T. mentagrophytes</i>	x			x						
<i>Cryptococcus albidus</i>				x						
<i>Rhodotorula</i> sp.	x x	x		x x	x		x		x	x x
<i>Candida</i> sp.	x				x				x	
<i>Candida guilliermondii</i>				x			x	x	x x	
<i>Candida rugosa</i>										
<i>Candida parapsilosis</i>	x	x x		x	x	x			x	x x
<i>Trichosporon</i> sp.				x						x
<i>Trichosporon inkin</i>										
<i>Trichosporon mucoides</i>	x x	x		x				x		
<i>Fusarium</i> sp.	x								x x	
<i>Fusarium clamidosporos</i>								x x		
<i>Cladosporium</i> sp.	x									x
<i>Penicillium</i> sp.		x x	x x						x	
<i>Phoma</i> sp.	x									
<i>Aspergillus niger</i>				x						

X – Espécies fúngicas comuns ALD

x – Espécies fúngicas comuns DLD

CAPÍTULO VI

Discussão

1 – Aspectos metodológicos

1.1 - Desenho do estudo

O objectivo principal do presente estudo foi o de conhecer o risco profissional de infecção e/ou lesão (*Tinea pedis* e onicomicose) nos trabalhadores dos ginásios com piscina e a sua eventual relação com a exposição à contaminação fúngica (ar e superfícies) nos locais de trabalho. Foi realizado um estudo com uma componente transversal, incidindo na situação portuguesa, mais especificamente na região de Lisboa, tendo-se procedido à medição, em simultâneo, da exposição e do efeito (Beaglehole, Bonita e Kjellstrom, 2003).

Foram exploradas associações entre a contaminação fúngica e as variáveis ambientais (temperatura, humidade relativa e velocidade do ar) e as características individuais e profissionais dos trabalhadores, na perspectiva de se encontrarem associações significativas tendo, no entanto, presente que a determinação de uma eventual relação causal entre as variáveis estudadas apresenta algumas limitações num estudo com uma vertente transversal.

Foram identificados os fungos isolados comumente nos trabalhadores e no ambiente de trabalho, à semelhança do que foi realizado no estudo de Teles e Rosado (1989), e calculadas as respectivas frequências de isolamento, carecendo estes resultados de serem aprofundados através de estudos de biologia molecular.

A componente longitudinal do presente estudo pretendeu caracterizar as diferenças sazonais da contaminação fúngica das superfícies, controlando uma possível variável de confundimento, através da selecção de um estabelecimento dos 10 monitorizados, cujos materiais para a lavagem e desinfectação das superfícies eram apenas utilizados nesse estabelecimento.

O presente estudo incluiu também uma componente quase experimental (Aguiar, 2007), pois analisou-se a distribuição fúngica nas superfícies antes e depois da lavagem e desinfectação, à semelhança do estudo realizado por Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005), nos 10

estabelecimentos e, posteriormente, no estabelecimento seleccionado para aplicação das componentes longitudinal e quase-experimental.

A selecção da amostra de estabelecimentos da região de Lisboa é metodologicamente adequada e representativa, como a seguir se demonstra, pelo que os resultados obtidos no presente estudo permitem a extrapolação dos mesmos não só para os estabelecimentos, mas também para trabalhadores dos ginásios com piscina da região de Lisboa.

A amostra de estabelecimentos foi constituída pelos 10 ginásios com piscina mais frequentados dos 30 existentes na região de Lisboa, não só por se considerar a variável número de ocupantes como potenciadora da contaminação fúngica das superfícies (Wergikoski, 2004; Buttner e Stetzenbach, 1993; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Ekhaise, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956), mas também por ser pertinente, em matéria de exposição ocupacional, estudar o cenário mais crítico (Macher, 1999).

Além da realização das colheitas biológicas aos trabalhadores para pesquisa fúngica e das colheitas ambientais para monitorização da contaminação fúngica nos locais de trabalho, foram criados instrumentos de recolha de dados fundamentados na pesquisa bibliográfica realizada sobre a temática, nomeadamente: grelha de observação aplicada durante a colheita biológica; questionário aplicado aos trabalhadores que participaram no estudo, de modo a obter informações sobre as variáveis individuais e profissionais e, ainda, grelha de observação destinada ao levantamento das variáveis ambientais que influenciam a contaminação fúngica no ambiente de trabalho.

A grelha de observação aplicada durante a colheita biológica pela investigadora responsável, onde se registou a presença e a localização da lesão visível nos pés dos trabalhadores segundo critérios estabelecidos em literatura científica, possibilitou, após o processamento laboratorial, a identificação de portadores assintomáticos, pois, de acordo com Attye, Auger e Joly (1990), Becerril-Chihu, Bazan-Mora e Lopez-Martinez (1999) e Oyeka e Ugwu (2002), alguns trabalhadores poderiam estar infectados com Dermatófitos e virem a desenvolver posteriormente *Tinea pedis* e/ou onicomicose. Além disso, permitiu o conhecimento da influência da toma de banho, antes da realização da colheita biológica, no diagnóstico laboratorial.

O questionário auto-preenchido aplicado aos trabalhadores foi sujeito a pré-teste em 10 profissionais que desenvolviam actividades em estabelecimentos não pertencentes à amostra, tendo sido alteradas algumas das questões, de modo a facilitar a respectiva interpretação. O

preenchimento do questionário foi realizado em simultâneo à realização da colheita das amostras biológicas e, com o preenchimento do mesmo, pretendeu-se obter informações referenciadas em estudos anteriores como potenciadoras da infecção fúngica (Chermette, Ferreira e Guillot, 2008; El Fekih, Hicheri e Khelifi, 2004; Iorio, Cafarchia e Capelli, 2007; Manciatì, Nardoni e Corazza, 2003; Pier, Smith e Alexiou, 1994; Sahin, Oksuz e Kaya, 2004; Sigurgeirsson e Steingrímsson, 2004; Szepletowski, Reich e Garlowska, 2006), tendo sido garantida a sua confidencialidade.

Relativamente aos métodos para recolha de dados, optou-se pelas colheitas de ar e de superfícies dos ginásios com piscina pois, segundo diversos estudos desenvolvidos, é necessária a realização de ambas para que seja possível a avaliação ambiental no que concerne à contaminação fúngica (Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret, 2009; Buttner e Stetzenbach, 1993; Cooley, Wong e Jumper, 1998; Duchaine e Mériaux, 2001; Hayashi e Osawa, 2009; Klánová e Hollerová, 2003; Kordbacheh, Zaini e Kamali, 2005; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Muñoz, Burillo e Bouza, 2001; Samson, Hoekstra e Frisvad, 2000; Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008; Teles e Rosado, 1989). Além disso, deve ser sempre aplicada mais do que uma técnica de colheita para monitorizar a contaminação fúngica, pois existem alguns fungos que não são viáveis no ar e conseguem ser isolados, por exemplo, através de colheitas de superfícies (Cooley, Wong e Jumper, 1998; Dillon, Miller e Sorenson, 1999; Samson, Hoekstra e Frisvad, 2000).

Outros estudos, realizados em ambiente hospitalar, têm adoptado a mesma metodologia, realizando, no âmbito da monitorização da contaminação fúngica, colheitas do ar e das superfícies para analisar a relação entre a contaminação fúngica e os efeitos na saúde, pois consideram que ambas as avaliações deverão ser efectuadas para a implementação de medidas preventivas e/ou correctivas (Alberti, Bouakline e Ribaud, 2001; Tablan, Anderson e Besser, 2004).

Johanning, Gareis e Landsbergis (2009) e Bloom, Nyman e Must (2009) referem que não deve ser realizada a avaliação do risco, em relação à exposição a fungos, apenas através de métodos quantitativos (UFC/m³ ou UFC/m²) ou qualitativos (identificação das espécies fúngicas), devendo também ser analisadas as micotoxinas e o ergosterol presentes. No entanto, a interpretação desses resultados ainda não é possível devido ao insuficiente conhecimento científico, pelo que não foram considerados no presente estudo.

Apesar de ser a contaminação fúngica das superfícies a única contaminação referenciada como potenciadora da infecção fúngica nos pés dos trabalhadores dos ginásios com piscina (Detandt e Nolard, 1995; Gudnadóttir, Hilmarsdóttir e Sigurgeirsson, 1999; Leoni,

Legnani e Guberti, 1999), as colheitas de ar realizaram-se com o intuito de conhecer a contaminação fúngica do ar e a sua possível influência na contaminação fúngica das superfícies. Segundo Lu, Lu e Zhang (2009), ambas estão relacionadas e são influenciadas pelas actividades realizadas pelos ocupantes dos espaços, que podem provocar a libertação de esporos fúngicos, pelas características desses mesmos esporos que também podem condicionar essa libertação e por outras variáveis ambientais e fúngicas (Górny, 2004; Górny, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008; Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

Os locais em cada estabelecimento onde foram realizadas as colheitas inerentes à avaliação ambiental foram seleccionados tendo em conta a intenção de obter locais onde a contaminação e, conseqüentemente, a exposição fossem mais críticas, devido ao facto de serem os mais utilizados (balneários e vestiários de ambos os géneros, por exemplo) ou por serem utilizados quando os trabalhadores se apresentavam descalços (balneários e vestiários, junto ao *jacuzzi* e tanque principal, escadas de acesso e estúdios onde se realizavam actividades com os pés descalços).

Foi preenchida, aquando da realização das colheitas ambientais em cada estabelecimento, uma grelha de observação para o registo das variáveis ambientais, cujos valores foram obtidos através de equipamentos devidamente calibrados e que possibilitaram a leitura directa dos valores obtidos da temperatura, humidade relativa e velocidade do ar e, ainda, o registo dos ocupantes dos estabelecimentos no dia das monitorizações.

Os parâmetros físicos como a temperatura e humidade relativa foram medidos à semelhança de outros estudos realizados, nomeadamente: Strachan, Flannigan e McCabe (1990); Sigler, Abbott e Gauvreau (1996), Cooley, Wong e Jumper (1998), Duchaine e Mériaux (2001), Möritz, Peters e Nipko (2001), Predicala, Urban e Maghirang (2002), Klánová e Hollerová (2003), Majumdar e Bhattacharyya (2004), Bartlett, Kennedy e Brauer (2004), Aydogdu, Asan e Otkun (2005), Gelincik, Büyükoztürk e Gül (2005), Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005), Gül, Issever e Ayraraz (2007), Kim, Park e Jang (2007), Ozkutuk, Ceylan e Ergor (2008), Roussel, Reboux e Bellanger (2008), Crawford, Rosebaum e Anagnost (2009), Homna, Hayashi e Hasegawa (2009), Hayashi e Osawa (2009), Ando, Yoshino e Takaki (2009), Mentese, Rad e Arisoy (2009), Sánchez, Muñoz e González (2009), Lu, Lu e Zhang (2009).

Registaram-se também os ocupantes dos estabelecimentos no dia das colheitas, pois vários estudos comprovam a influência da ocupação na contaminação fúngica (Wergikoski, 2004; Buttner e Stetzenbach, 1993; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Ekhaise, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Lugauskas

e Krikstaponis, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956).

O rigor e a fiabilidade das colheitas biológicas, da avaliação ambiental, respectivo processamento laboratorial e, ainda, a medição dos parâmetros físicos foram assegurados devido a vários aspectos, designadamente: realização e acompanhamento em contínuo do trabalho de campo e processamento laboratorial pela investigadora responsável, realização das colheitas de ar e superfícies às mesmas horas e em locais análogos nos estabelecimentos pertencentes à amostra e ainda formação adequada de todos os profissionais que colaboraram na realização das tarefas inerentes ao estudo.

1.2 - Colheitas biológicas

O rigor na colheita biológica foi garantido mesmo sem a limpeza prévia da zona corporal, pois os meios utilizados no Laboratório de Micologia do INSA para a cultura das amostras contêm antibióticos, de modo a impedir o crescimento bacteriano e colmatando a possibilidade de inviabilizar os resultados devido ao seu crescimento.

Foi realizada apenas uma única colheita nas unhas dos pés de cada trabalhador (bisturi ou zaragatoa), apesar de alguns autores constatarem que o diagnóstico laboratorial da onicomicose aumenta com a repetição das colheitas biológicas do mesmo local, devido ao facto do raspar repetitivo da unha facilitar o isolamento do fungo (Meireles, Rocha e Brilhante, 2008). No presente estudo, em 15,5% (9) dos trabalhadores que apresentavam lesão não foram isolados fungos. Desses, 8 apresentavam lesão nas unhas, podendo esta situação ser a justificação dos resultados obtidos.

As colheitas biológicas foram realizadas, sempre que possível, após os trabalhadores realizarem actividade física e antes de tomarem banho, seguindo o mesmo procedimento que Lacroix, Baspeyras e de la Salmonière (2002) e Watanabe, Taniguchi e Katoh (2000). Este procedimento justifica-se, de modo a recuperar os microrganismos a pesquisar, pois o banho poderia influenciar, diminuindo, o isolamento de fungos nos pés. No entanto, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) em relação ao isolamento fúngico nas colheitas biológicas realizadas antes ou depois do banho.

1.2.1 – Identificação fúngica associada ao diagnóstico laboratorial

Os critérios utilizados para o diagnóstico laboratorial são os aplicados pelos profissionais do laboratório onde foram processadas as colheitas biológicas, Laboratório de Micologia do INSA, à semelhança do que foi realizado no estudo de Surjushe, Kamath e Oberai (2007), em

que os critérios aplicados para o diagnóstico laboratorial foram também os mesmos do laboratório onde foram processadas as colheitas.

Foi tido em conta que o isolamento de fungos de culturas associadas a um exame directo positivo não é garantia de diagnóstico correcto de uma micose, pois os fragmentos das unhas e pele poderão conter Dermatófitos inviáveis na sua superfície e estarem contaminados por FFND. No entanto, apesar de não ser tão comum, poderão ocorrer infecções conjuntas justificando a presença de fungos de crescimento mais rápido do que os Dermatófitos (Greer, 1995; Uchida, Tanaka e Yamaguchi, 2003). Assim, no caso de isolamento de FFND em colheitas biológicas não foi realizada nova colheita biológica, como sugerido em alguns estudos (Greer, 1995; Gupta, Cooper e MacDonald, 2001; Nelson, Martins e Heffermast, 2004; Shemer, Davidovici e Grunwald, 2009), pois, à semelhança do relatado por Gupta, Cooper e MacDonald (2001), seria muito difícil realizar mais do que uma colheita em momentos diferentes aos trabalhadores abrangidos pelo presente estudo.

1.3 - Colheitas ambientais

Em relação às colheitas de ar, o método aplicado foi adequado para a caracterização da diversidade de espécies, bem como para aferir a quantidade de UFC/m³ presentes no ar. Colheram-se amostras de ar de 200 litros cada, a 140 L/minuto, com a duração de colheita de apenas 1,43 minutos, de modo a evitar a secagem do meio de cultura que poderia dificultar ou impossibilitar o crescimento fúngico (Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

O volume de ar (200 litros) foi seleccionado, de modo a possibilitar a contagem e identificação de colónias fúngicas (Verhoeff, Van Wijnen e Boleij, 1990). Para obtenção dos melhores resultados, optou-se pelo sistema de impacto assegurado pelo equipamento Millipore Air, pois, segundo Predicala, Urban e Maghirang (2002), esse método apresentou os melhores resultados quando comparado com outros tipos de métodos de colheita.

Foi aplicado um único equipamento para a realização das colheitas de ar, pois, segundo o estudo de Gangneux, Robert-Gangneux e Gicquel (2006), em que se aplicaram vários equipamentos para a realização das colheitas de ar, não existem diferenças significativas nos resultados obtidos.

As colheitas foram realizadas ao fim do dia, de modo a caracterizar o cenário mais crítico da contaminação fúngica e como sugerido pela ACGIH (Macher, 1999), apesar de a Nota Técnica NT – SCE – 02 (Sistema de Certificação Nacional, 2009) referir que as medições deveriam ser realizadas em períodos representativos do perfil normal de ocupação, utilização ou funcionamento do edifício. Além disso, segundo o estudo realizado por Santour, Dalle e Olivieri

(2009), em que foram realizadas colheitas de ar no início e no fim da manhã num laboratório, as últimas colheitas apresentaram valores bastante superiores em relação à contaminação fúngica.

No presente estudo foram realizadas 5 colheitas de ar em 4 locais diferentes no interior de cada um dos 10 estabelecimentos e 1 colheita de ar no local considerado como referência (exterior) em cada estabelecimento. Apesar da variação sazonal e temporal da contaminação fúngica sugerir a realização do maior número de colheitas possíveis (Eudey, Su e Burge, 1995), as restrições logísticas, de equipamento e económicas condicionam o número de colheitas.

Além disso, poucos estudos fornecem indicações sobre o número de colheitas necessárias para caracterizar a contaminação fúngica do ar num determinado ambiente e não existe consenso entre essas referências, nomeadamente, Chew, Douwes e Doekes (2001) referem que 1 colheita não é suficiente, Hyvarinen, Vahteristo e Meklin (2001) sugerem a realização de colheitas em 11 dias diferentes, Rock (1995) indica a realização de 6 a 11 colheitas em contexto ocupacional, Macher (1999) aconselha a realização de 3 colheitas por dia em 3 dias consecutivos, Spicer e Gangloff (2003) indicam que, para existirem diferenças significativas entre o interior e o exterior, terão que ser realizadas, pelo menos, 15 colheitas em cada um dos locais e a Nota Técnica NT – SCE – 02 (Sistema de Certificação Nacional, 2009) refere que o número mínimo de pontos de amostragem interiores e, consequentemente, o número de colheitas deve ser calculado tendo em conta a área do espaço a monitorizar.

A altura de 50 cm para a realização das colheitas de ar foi seleccionada, pois pretendia-se conhecer a possível influência da contaminação fúngica do ar na contaminação fúngica das superfícies, sendo por isso justificável que as mesmas tenham sido realizadas próximas do pavimento. De Ana, Torres-Rodríguez e Ramírez (2006) também realizaram as colheitas de ar a 50 cm do pavimento, apesar de outros autores terem seleccionado outras alturas (Gül, Issever e Ayraz, 2007; Kim, Park e Jang, 2007; Wong, Mui e Hui, 2008; Zorman e Jersek, 2008) ou recomendarem a realização das colheitas ao nível das vias respiratórias (Górny e Dutkiewicz, 2002; Jo e Kang, 2005; Sistema de Certificação Nacional, 2009).

As colheitas de superfícies foram realizadas para verificar se a contaminação fúngica das mesmas seria um factor de risco para os trabalhadores dos ginásios com piscina. Estas são também essenciais para identificar quais as origens da contaminação e para determinar a eficácia dos procedimentos de lavagem e desinfeção (Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008; Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004).

Optou-se pela técnica de esfregaço por zaragatoa nas colheitas de superfícies, de modo a garantir a quantificação e a identificação das espécies fúngicas. A técnica de esfregaço por alcatifa, utilizada noutros estudos (Attye, Auger e Joly, 1990; Cordonnier, Parent e De Beer,

1970; Drouhet, Marcel e Labonde, 1967; Kordbacheh, Zaini e Kamali, 2005), não foi aplicada devido ao facto do pedaço de alcatifa ser colocado no meio de cultura sem espalhamento, o que dificulta a quantificação de UFC e a respectiva identificação, pois não cumpre os requisitos inerentes à densidade referidos na BS EN 13098:2001 (British Standards, 2001).

O facto de terem sido realizadas colheitas no pavimento junto ao tanque principal e *jacuzzi* poderá ter influenciado os resultados laboratoriais devido a um possível constrangimento ou eliminação dos fungos causados por resquícios de água desinfectada com hipoclorito de sódio existente no pavimento, especialmente durante as colheitas realizadas antes da lavagem e desinfecção, pois foi nessa altura que se constatou maior quantidade de água dos tanques e *jacuzzis* nas superfícies em redor.

No entanto, esses dois locais foram os que apresentaram maior número de classificações de Risco de Infecção Elevado quando aplicado o método desenvolvido no presente estudo para estimar o risco de infecção fúngica, considerando os 10 estabelecimentos monitorizados e, no caso do estabelecimento monitorizado nas 2 estações do ano, verificou-se o mesmo em relação ao tanque principal, tendo as escadas de acesso aos tanques substituído o *jacuzzi* nessas classificações. Assim, apesar do possível condicionamento na proliferação fúngica, devido à existência de água com hipoclorito de sódio nas superfícies analisadas, a mesma poderá não ter condicionado os resultados obtidos.

1.4 - Métodos laboratoriais

Os métodos laboratoriais são os utilizados no laboratório onde decorreu o processamento laboratorial do presente estudo, estando a sua aplicação devidamente fundamentada quer em relação à rotina clínica, quer relativamente à investigação científica realizada.

Os resultados do estudo podem estar subestimados, tendo em conta que os métodos convencionais (cultura das espécies fúngicas) e as temperaturas de incubação são inibidores de algumas espécies fúngicas, podendo, no entanto, favorecer o crescimento de outras (Zorman e Jerseck, 2008). Poderão também existir organismos não viáveis, ou que não crescem nos meios de cultura aplicados e que possuem relevância clínica (Bartlett, Kennedy e Brauer, 2004; Strachan, Flannigan e McCabe, 1990).

Apesar dos métodos moleculares serem mais sensíveis, específicos e rápidos (Stetzenbach, Buttner e Cruz, 2004), tendo em conta o objectivo do estudo em que se pretendia conhecer a distribuição fúngica num contexto ocupacional ainda pouco estudado, os métodos convencionais são, sem dúvida, os mais adequados, já que a biologia molecular requer o

conhecimento prévio do que se pretende pesquisar, pois apenas permite a identificação de espécies específicas (Douwes, Thorne e Pearce, 2003). Além disso, os custos associados às técnicas de biologia molecular são bastante elevados, as informações disponíveis ainda são escassas para algumas espécies fúngicas (Horner, 2003) e é ainda recomendada a confirmação da identificação fúngica por biologia molecular através dos métodos convencionais (Borman, 2009).

Alguns estudos recorrem ao exame histológico para diagnóstico laboratorial, mas este não permite a identificação da espécie fúngica, permitindo apenas a diferenciação entre Dermatófitos e FFND, por exemplo, sendo por isso necessário complementar este método sempre com outro (Shemer, Davidovici e Grunwald, 2009), pelo que os métodos convencionais se mantêm como os mais indicados tendo em conta o objectivo do presente estudo.

2 - Resultados

2.1 - Biológicos

Dos 124 trabalhadores que participaram no estudo, 58 (46,8%) possuíam lesões visíveis. Desses 58 profissionais com lesão, em 24 (41,4%) a lesão localizava-se nas unhas dos pés, em 16 (27,6%) a lesão verificou-se nos interstícios dos dedos dos pés, em 9 (15,5%) observou-se nos interstícios dos dedos e nas unhas dos pés, em 6 (10,3%) na planta/dorso interior do pé, em 2 (3%) na planta e unhas e em 1 (2%) na planta e interstícios dos dedos. Noutros estudos realizados a outros grupos populacionais foram obtidos resultados diferentes, nomeadamente: Jang, Chi e Choi (2000) constataram que a lesão intersticial foi a mais frequente (53,5%) em crianças coreanas, enquanto que Cheng e Chong (2002) verificaram que, em adultos chineses, a lesão mais frequente era a plantar (84,5%), seguida da intersticial (67,1%).

As diferenças nas prevalências referentes aos locais de lesão entre os trabalhadores pertencentes à amostra e outros grupos populacionais podem ser justificadas devido ao tipo de exposição, pois as actividades desportivas provocam traumatismos nas unhas e lesões nos pés, estando as mesmas dependentes, entre outros factores, do tipo de actividade desportiva praticada (Burkhart, 1999; Weineck, 1999). Além disso, os traumatismos e lesões podem facilitar a penetração fúngica e, consequentemente, a infecção nos pés (Purim, Bordignon e Queiroz-Telles, 2005).

Verificou-se que 11 (19%) dos 58 trabalhadores com lesão apresentavam, em simultâneo, *Tinea pedis* e onicomicose, sendo um valor bastante inferior ao do estudo realizado

por Piérard, Arrese e Pierre (1994), em que, das 691 unhas infectadas que foram analisadas, em 42% dos casos foi isolada mais do que uma espécie fúngica. Em diversos estudos realizados, as prevalências dos que apresentaram ambas as patologias foram bastante superiores (entre 30 e 40%) (Szepietowski, 2004a; Cheng e Chong, 2002; Jang, Chi e Choi, 2000; Szepietowski, Reich e Garlowska, 2006; Ungpakorn, Lohaprathan e Reangchainam, 2004) e num estudo realizado por Foulet, Cremer e Bourdon-Lanoy (2004) 75,1% dos indivíduos com onicomicose apresentaram também infecção plantar do pé e 66,6% infecção interdigital. No entanto, ao contrário do estudo realizado por Piérard (2001) e do presente estudo, Chen e Chong (2002) não verificaram infecções conjuntas num estudo aplicado a 9.332 adultos.

A prevalência de onicomicose na amostra em estudo foi de 19,4%, estando os resultados próximos dos obtidos em estudos realizados em países como a Austrália, Reino Unido e Estados Unidos da América, em que a incidência de onicomicose tem sido estimada para profissionais que frequentam balneários e vestiários, como é o caso dos trabalhadores dos ginásios com piscina, até 20% (Ellis, Watson e Marley, 1997a).

Apenas 28 (22,6%) dos 124 trabalhadores responderam que apresentavam deformação/espessamento das unhas dos pés ou *Tinea pedis*, mas foi possível constatar, através da grelha de observação inerente à colheita, que 58 (46,8%) apresentavam lesão visível. Segundo Heikkilä e Stubb (1995), Gupta, Jain e Lynde (1997), Ghannoum, Hajjeh e Scher (2000) e Burzykowski, Molenberghs e Abeck (2003), quando se realizam estudos na população em geral, em que é necessário que os elementos da amostra respondam a um questionário para auto-diagnóstico, são obtidos resultados com baixa prevalência de onicomicose (<3%), enquanto que quando são realizados diagnósticos clínicos a prevalência é significativamente elevada (entre 6,86 e 34,9%), revelando, desta forma, a limitada capacidade de auto-diagnóstico por parte dos sujeitos.

A insuficiente capacidade de auto-diagnóstico poderá justificar o facto de apenas 9 dos trabalhadores com lesão terem respondido que realizavam tratamento. Contudo, não é só a falta de capacidade para o auto-diagnóstico que justifica a não realização de tratamento pois, segundo Ghannoum, Hajjeh e Scher (2000), os pacientes mais jovens recorrem a tratamento numa fase mais precoce da doença e, tendo em conta a idade dos trabalhadores em causa (54% dos profissionais situa-se no intervalo etário entre os 28 e os 34 anos), seria de esperar a procura de tratamento pelo menos nos 28 que responderam que apresentavam deformação/espessamento das unhas dos pés ou pé de atleta.

É importante também salientar que, dos 124 trabalhadores pertencentes à amostra, 81 afirmaram que já tinham tido, no passado, deformação/espessamento das unhas dos pés ou pé

de atleta. Os trabalhadores justificaram a situação devido ao seu currículo desportivo e a situações específicas de treino, estando desta forma de acordo com Kamihama, Kimura e Hosokawa (1997). Alguns referiram ainda como sendo uma situação rotineira e normal, justificando desta forma a não procura de tratamento, reflectindo a falta de consciência na necessidade de tratamento.

Dos 143 isolamentos obtidos das 258 colheitas biológicas realizadas, a frequência de isolamento de fungos leveduriformes e de fungos filamentosos foi de 58,7% e 41,3%, respectivamente. Nos 58 trabalhadores com lesão, as Leveduras foram as mais isoladas (41,4%), seguidas dos Dermatófitos (24,1%) e de FFND (6,9%), apesar de a maioria dos autores diagnosticar como agentes etiológicos mais frequentes os Dermatófitos (80 a 90%), seguidos pelas Leveduras (5 a 17%) e, por fim, FFND (2 a 12%) (Haneke, 1991; Kaur, Kashyap e Bhalla, 2008; Kemna e Elewski, 1996; Perca, Ramos e Garau, 2000; Szepletowski, Reich e Garlowska, 2006; Weitzman e Summerbell, 1995).

Um aspecto que poderá justificar a maior frequência de isolamento de Leveduras nas colheitas realizadas aos trabalhadores pode ser devido ao facto de terem sido isoladas mais UFC/m² de fungos leveduriformes do que de fungos filamentosos nas superfícies (Viegas, Alves e Carolino, 2010). Segundo Summerbell (1997), a mesma situação pode também dever-se ao facto de ocorrer traumatismo da unha nos trabalhadores dos ginásios com piscina, algo bastante frequente tendo em conta as actividades realizadas (Purim, Bordignon e Queiroz-Teles, 2005), facilitando a penetração de outras espécies fúngicas além dos Dermatófitos. Além disso, algumas Leveduras, como *C. albicans*, podem inibir o crescimento de vários Dermatófitos devido à libertação de dióxido de carbono ou devido à produção de ácidos (Odds, 1988).

Candida parapsilosis e *Rhodotorula* sp. foram as Leveduras mais frequentemente isoladas (20,2%). No estudo realizado por Meireles, Rocha e Brilhante (2008), *C. parapsilosis* foi a segunda espécie de Levedura mais isolada, sendo considerada como a mais frequente na onicomicose das unhas dos pés em vários estudos (Figueiredo, Santos e Resende, 2007; Gautret, Rodier e Kaufmann-Lacroix, 2000; Segal, Kimchi e Kritsman, 2000; Vella Zahra, Gatt e Boffa, 2003). Segundo Tuon e Costa (2008), durante as duas últimas décadas, o género *Rhodotorula* tem emergido como agente etiológico oportunista, especialmente em doentes imunocomprometidos e descrito como causa de micoses humanas. Figueiredo, Santos e Resende (2007) referem que outras espécies leveduriformes, como *C. albicans* e *Candida guilliermondii*, também isoladas no presente estudo, são consideradas como agentes etiológicos de onicomicose nos pés.

No caso dos Dermatófitos, *T. rubrum* foi o mais frequente (55,5%), tendo esta espécie sido também a mais isolada noutros estudos internacionais (Mezzari, 1998; Ruiz e Zaitz, 2001; Aste, Pau e Aste, 2003; Bassiri-Jahromi e Khaksari, 2009; Borman, Campbell e Fraser, 2007; Chang, Chung e Huang, 2001; Cheng e Chong, 2002; Costa, Passos e Sousa, 2002; Garg, Venkatesh e Singh, 2004; Korstanje e Staats, 1995; Mercantini, Moretto e Palamara, 1995; Monzón de la Torre, Cuenca-Estrella e Rodríguez-Tudela, 2003; Romano, Gianni e Difonzo, 2005; Zaitz, Campbell e Marques, 1998) e nacionais (Lopes, Velho e Amorim, 2002; Valdigem, Pereira e Macedo, 2006).

Quando comparado com *T. mentagrophytes*, espécie que também aparece na maior parte dos estudos enunciados anteriormente logo a seguir a *T. rubrum*, pode afirmar-se que esta situação ocorre devido ao facto de este último apresentar melhor capacidade de adaptação, tendo em conta que ambas as espécies apresentam as mesmas características ecológicas. Além disso, *T. mentagrophytes* produz lesões inflamatórias que se podem curar espontaneamente (Ruiz e Zaitz, 2001). No entanto, contrariando os resultados do presente estudo e dos outros estudos mencionados, no estudo realizado por Teles e Rosado (1989), que envolveu 123 trabalhadores de uma fábrica de montagem de automóveis na zona de Setúbal, verificou-se que em 38 (31%) foi isolado *T. mentagrophytes* e em apenas 18 (15%) foi isolado *T. rubrum*. O mesmo se verificou num estudo realizado na Arábia Saudita, em que nos 71 casos em que foram isolados Dermatófitos, *T. mentagrophytes* foi também a espécie mais comum (Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi, 2008).

Relativamente aos FFND, *Penicillium* sp. foi o mais frequente (15,6%), seguido do género *Fusarium* (12,5%). Em relação ao género *Penicillium*, este foi também o segundo mais frequentemente isolado, quer nas colheitas de ar como nas colheitas de superfícies (Viegas, Alves e Carolino, 2009), eventualmente pelo facto de produzir bastantes esporos (Duchaine e Mériaux, 2001), sendo a sua elevada disseminação ambiental uma possível justificação para o facto de ser também o mais isolado nos trabalhadores (Viegas, Alves e Carolino, 2010). Relativamente ao género *Fusarium*, este tem sido considerado em vários estudos o agente etiológico mais frequente de onicomicose (Araújo, Souza e Bastos, 2003; Tosti, Piraccini e Lorenzi, 2000; Ungpakorn, 2005) e de *Tinea pedis* (Ungpakorn, 2005).

2.2 - Ambientais

Em relação à frequência dos fungos no ar e nas superfícies dos ginásios com piscina, os três primeiros géneros mais isolados nas colheitas de ar, quer no interior como no exterior dos estabelecimentos monitorizados, foram *Cladosporium* (36,6%), *Penicillium* (19,0%) e *Aspergillus*

(10,2%), tendo sido também os mais frequentes noutros estudos realizados (Burrell, 1991; De Ana, Torres-Rodríguez e Ramírez, 2006; Gül, Issever e Ayraz, 2007; Jo e Seo, 2005; Quezada e Lange, 2004; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008; Shelton, Kirkland e Flanders, 2002). No caso das superfícies, também em relação aos fungos filamentosos, os géneros mais frequentemente isolados, antes e depois da lavagem e desinfecção, foram *Fusarium* (ALD:19,1%; DLD:17,2%), *Penicillium* (ALD:11,5%; DLD:16,9%) e *Scytalidium* (ALD:11,5%; DLD:13,3%), tendo o género *Fusarium* sido também o mais frequente num estudo realizado em piscinas italianas (Brandi, Sisti e Paparini, 2007).

O segundo género dos fungos filamentosos mais frequentemente isolado, quer nas colheitas de ar como nas colheitas de superfície foi *Penicillium*, podendo esta situação ser, como mencionado anteriormente, justificada pelo facto de produzir bastantes esporos e também pelo facto de os seus esporos se libertarem mais facilmente no ar do que o género *Cladosporium* (Homna *et al.*, 2009). Também num estudo realizado em escolas do primeiro ciclo, este género foi dos mais isolados, tanto nas colheitas de ar como nas realizadas através de aspiração ao pavimento (Ramachandran, Adgate e Banerjee, 2005). No estudo de Bartlett, Kennedy e Brauer (2004), este género e *Aspergillus* sp., foram isolados mais frequentemente no interior dos espaços do que no seu exterior, estando também estes resultados em sintonia com o referido por Fischer e Dott (2003), pois estes consideram que em edifícios com contaminação fúngica a incidência dos géneros *Penicillium* e de *Aspergillus* é geralmente superior à do exterior.

A justificação aplicada ao género *Penicillium* poderá também ser sugerida para o género *Aspergillus*, que foi o terceiro mais isolado nas colheitas de ar, pois o mesmo liberta também muitos esporos, sendo os mesmos muito semelhantes aos do género *Penicillium* (Duchaine e Mériaux, 2001). Ambos os géneros são também os mais frequentes em edifícios com problemas de infiltrações e de humidade (Rautiala, Reponen e Hyvarinen, 1996; Reynolds, Streifel e McJilton, 1990). DeKoster e Thorne (1995) constataram que, em casas com os já referidos problemas, os géneros *Penicillium* e *Aspergillus* apresentam maior frequência do que todos os outros. Holmberg, em 1987, verificou, num estudo realizado em casas na Suécia, que concentrações de esporos de *Aspergillus* acima de 50 UFC/m³ estavam associadas com elevada prevalência de pessoas expostas com sintomas.

Em relação ao género mais frequentemente isolado no ar, *Cladosporium*, será provavelmente o fungo que ocorre com maior frequência em todo o mundo, especialmente em climas temperados (Cooley, Wong e Jumper, 1998). Este género apresentou a maior frequência de isolamento também noutros estudos, nomeadamente: Beaumont, Kauffman e de Monchy (1985), Halwagy (1989), Verhoeff, Van Wijnen e Boleij (1990), Savino e Caretta (1992), Levetin,

Shaughnessy e Fischer (1995), Parat, Perdrix e Fricker-Hidalgo (1997), Takahashi (1997), Piecková e Jesenská (1999), Khan, Khan e Chandy (1999), Dixit, Lewis e Baty (2000), Su, Wu e Chen (2001), Hu, Barnes e Kusko (2002), Bueno, Silva e Oliver (2003), Lee e Jo (2005), Fang e Ouyang (2005), de Ana, Torres-Rodríguez e Ramírez (2006), Lu, Lu e Zhang (2009), Sánchez, Muñoz e González (2009), entre outros.

Segundo a Organização de Saúde do Canadá (Health Canada, 1993) e Garrett, Rayment e Hooper (1998), o mesmo género está muito associado com problemas de condensação em espaços interiores e, segundo Su, Rotnitzky e Burge (1992), com problemas do foro respiratório. Este género possui também esporos com paredes secas, fáceis de dissociar e leves, sendo por isso comum no ar (Duchaine e Mériaux, 2001; Goyer, Lavoie e Lazure, 2001).

O estudo realizado por Cano e Almeida (2008) na cidade de Lisboa apresentou, além dos géneros *Cladosporium* e *Penicillium*, isolados no presente estudo, outro género com maior predominância no ar exterior, designadamente *Alternaria*. Esta informação é relevante pois, de acordo com Nevalainen (2007), o ar exterior é uma das principais fontes de fungos no ambiente interior, sendo por esse motivo justificável a coincidência entre os géneros predominantes no interior com os do exterior, como se verificou no estudo de Nunes e Ladeira (2007) em que os géneros *Cladosporium*, *Aspergillus* e também *Alternaria* foram os mais frequentemente isolados. Contudo, o género *Alternaria*, pelo facto de não produzir muitos esporos, quando comparado com *Aspergillus* e *Penicillium*, é expectável que não seja encontrado tão frequentemente no ar (Duchaine e Mériaux, 2001), sendo eventualmente devido a este aspecto que o mesmo não foi um dos mais isolados no presente estudo.

Aspergillus flavus foi a espécie fúngica mais frequente do género *Aspergillus* isolada no ar interior e exterior dos estabelecimentos monitorizados, ao contrário do estudo de Cooley, Wong e Jumper (1998), realizado na cidade do México, e do estudo de De Ana, Torres-Rodríguez e Martínez (2006), realizado na cidade de Barcelona, em que a espécie mais frequente no exterior foi *Aspergillus niger*, podendo esta diferença ser justificada devido às diferentes condições climáticas e outras variáveis ambientais que podem afectar a proliferação das diferentes espécies fúngicas (Halwagy, 1989; Jones e Harrison, 2004). De salientar, que algumas espécies do mesmo género, no presente estudo, só foram isoladas no exterior como foi o caso de *Aspergillus candidus* e de *Aspergillus versicolor* e outras apenas no interior como, por exemplo, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus clavatus*. Verificou-se também, em alguns dos espaços monitorizados, que espécies pertencentes ao género *Aspergillus* apresentaram maior concentração no interior do que no exterior.

No caso das superfícies, à semelhança de um estudo realizado em piscinas italianas, o género *Fusarium* foi também o mais frequente (Brandi, Sisti e Paparini, 2007). As 3 espécies pertencentes ao género e isoladas no presente estudo foram *Fusarium clamidosporo*, *F. oxysporum* e *F. solani*, sendo as duas últimas referidas como as mais frequentes causadoras de onicomicose por FFND (Araújo, Souza e Bastos, 2003; Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000), apesar de Godoy, Nunes e Silva (2004) considerarem apenas *F. oxysporum* a mais frequentemente associada com a onicomicose.

O género *Scytalidium*, isolado também nas superfícies, é considerado patogénico em regiões tropicais, à semelhança dos Dermatófitos. Tanto o género *Scytalidium* como o género *Fusarium* são capazes de metabolizar a queratina nas unhas, mas com menor intensidade que os Dermatófitos (Gupta, Cooper e MacDonald, 2001).

Também nas superfícies e no grupo dos FFND, o género *Aspergillus*, isolado com frequência na onicomicose dos pés (Gianni, Cerri e Crosti, 2000) e encontrado nas superfícies antes e depois da lavagem e desinfecção, incluiu várias espécies, nomeadamente: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus versicolor*.

Em relação às Leveduras, no ar foram identificados 3 fungos diferentes, nomeadamente o género *Rhodotorula*, também isolado no ar no estudo de Sánchez, Muñoz e González (2009) e as espécies *Trichosporon mucoides* e *Cryptococcus unigutulatus*. Nas superfícies foram identificadas 12 fungos diferentes. *Cryptococcus* foi o género mais frequente ALD e depois foi o género *Candida*. A espécie *Trichosporon mucoides* foi a mais frequente antes e depois da lavagem e desinfecção.

Têm-se verificado várias infecções devido às espécies *C. albicans*, *Candida famata*, *C. parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans* e do género *Rhodotorula*, todas elas isoladas nas superfícies (Odds, 1988). No que concerne às espécies de *Candida*, o género mais frequente depois da lavagem e desinfecção, estas são patogénicas oportunistas que podem causar infecções invasivas em hospedeiros com as defesas afectadas (Odds, 1988).

Relativamente ao género *Cryptococcus*, verificou-se que foi o mais frequente ALD e que algumas das espécies isoladas são patogénicas. A espécie *Cryptococcus neoformans*, isolada DLD, é considerada como um dos fungos oportunistas mais comuns e como a principal causa de infecção fúngica do sistema nervoso central em indivíduos imunocomprometidos, sendo várias vezes considerada como patogénica sistémica (Mandell e Kauffman, 2007; Murray, Rosenthal e

Pfaller, 2005). O género *Trichosporon* tem vindo a aumentar a sua incidência, estando também relacionado com infecções em doentes com sistema imunológico deficiente (Odds, 1988).

Em relação aos Dermatófitos, isolados apenas nas superfícies, o género *Trichophyton*, com as espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, foi isolado em 5 estabelecimentos, podendo ter sido disseminado também por indivíduos com lesões ou portadores sãos, visto ser possível isolar Dermatófitos em indivíduos sem lesões aparentes e tratar-se de um género antropofílico (Attye, Auger e Joly, 1990; Becerril-Chihu, Bazan-Mora e Lopez-Martinez, 1999; Oyeka e Ugwu, 2002). De salientar também que, três das vezes em que foi isolado, foi DLD, presumivelmente devido ao facto desses procedimentos e/ou os produtos aplicados não serem os mais adequados para a eliminação de algumas espécies fúngicas.

Num estudo que decorreu entre 1980 e 2005 no Reino Unido, constatou-se que *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* compreenderam 80% de todos os Dermatófitos isolados em 1980 e 90% dos isolamentos em 2005 (Borman, Campbell e Fraser, 2007). Em Portugal, em estudos realizados em Braga (Valdigem, Pereira e Macedo, 2006) e no Porto (Lopes, Velho e Amorim, 2002), *T. rubrum* foi também a espécie mais isolada, sendo normal, por esse motivo, que as 2 espécies de Dermatófitos tenham sido isoladas em 5 dos 10 estabelecimentos monitorizados.

Constatou-se também que antes e depois da lavagem e desinfecção das superfícies foram isoladas mais UFC/m² de fungos leveduriformes do que de fungos filamentosos, podendo dever-se ao facto de os primeiros serem mais difíceis de se disseminar no ar, mantendo-se nas superfícies (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001) pelo facto de possuírem esporos molhados, produzidos na forma de uma massa gelatinosa (Duchaine e Mériaux, 2001) ou ainda devido ao facto de poderem ser mais resistentes aos procedimentos e produtos aplicados nas superfícies para respectiva lavagem e desinfecção. No entanto, estes resultados foram contrários aos obtidos no estudo realizado por Kordbacheh, Zaini e Kamali (2005), em que se verificou maior frequência de isolamento de fungos filamentosos do que de fungos leveduriformes, tanto no ar como nas superfícies analisadas.

Apesar de as zonas envolventes aos *jacuzzis* e aos tanques principais dos estabelecimentos monitorizados se encontrarem próximas espacialmente, os resultados referentes às espécies fúngicas isoladas foram bastante diferentes pois, considerando as médias de fungos filamentosos e de fungos leveduriformes nas superfícies dos diferentes locais, verificou-se que junto ao *jacuzzi* foi o local que apresentou maior média de fungos filamentosos, enquanto que junto ao tanque principal foi o local com maior média de fungos leveduriformes, podendo esta situação dever-se a variáveis ambientais não controladas que influenciam a presença das espécies fúngicas.

Os resquícios de água desinfetada com hipoclorito de sódio existente no pavimento junto aos tanques e *jacuzzis* poderão ter condicionado os resultados obtidos, no entanto, trata-se de uma situação característica que ocorre em ginásios com piscina, sendo por esse motivo uma situação representativa do contexto profissional que se pretende conhecer.

Nos resultados das colheitas das superfícies provenientes do estabelecimento monitorizado no Verão e Inverno, verificou-se que, em relação aos géneros mais frequentes de fungos filamentosos no Inverno, estes foram *Fusarium* ALD (41,4%) e *Phoma* DLD (92,0%) e no Verão foram *Penicillium* ALD (23,4%) e *Geotrichum* DLD (36,5%). No que concerne aos fungos leveduriformes no Inverno foi o género *Candida* ALD e DLD (89,6% e 64,2%) e no Verão foram os géneros *Candida* ALD (61,5%) e *Trichosporon* DLD (43,6%). As discrepâncias nas frequências de isolamento, não só entre estações do ano, mas também entre ALD e DLD, poderão corroborar a dependência da diversidade das espécies fúngicas em relação a variáveis ambientais não estudadas no presente estudo.

Entre as espécies do género *Fusarium* isoladas no Inverno, a mais frequente foi *Fusarium verticilloides* que, apesar de não ter sido isolada na amostra de trabalhadores do presente estudo, é necessário salientar que no estudo realizado por Castro-López, Casas e Sopo (2008) a 137 indivíduos com onicomicose, além de *F. solani* (64,9%) e *F. oxysporum* (32,8%), isolou-se também a espécie *Fusarium verticilloides* com a frequência de 2,3%, ficando por isso comprovada a sua capacidade como agente etiológico de onicomicose.

2.3 - Estudo da associação entre variáveis

2.3.1 - Variáveis biológicas

Os homens apresentaram 4 vezes mais predisposição para a presença de Dermatófitos, tendo-se verificado associação significativa ($p < 0,05$) entre género e isolamento de Dermatófitos, confirmada com a aplicação da medida de força da associação *Odds Ratio*. Também na Líbia e no Paquistão, enquanto as Leveduras do género *Candida* são a causa dominante de onicomicose nas mulheres, apesar de se ter verificado no presente estudo uma maior tendência para as Leveduras serem isoladas no género masculino, nos homens as infecções são causadas por Dermatófitos, mais especificamente *Trichophyton violaceum*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. canis* (Bokhari, Hussain e Jahangir, 1999; Ellabib, Agaj e Khalifa, 2002).

Estes resultados podem ajudar a compreender o facto de os homens apresentarem mais dermatomicoses do que as mulheres, como ocorreu no presente estudo em que os trabalhadores do género masculino apresentaram maior frequência de lesão (52%) do que o género feminino (38,8%) e, como foi relatado em vários estudos realizados, nomeadamente na

América do Norte, na Venezuela e em sujeitos diabéticos no Canadá (Escalante, Sánchez-Borges e Capriles-Hulett, 2000; Ghannoum, Hajjeh e Scher, 2000; Gonzalez, Ferrer e Buesa, 1999).

A justificação apontada, noutros estudos, para a maior frequência em homens do que em mulheres foi o facto de os homens realizarem mais actividade desportiva (Heikkilä e Stuff, 1995), estarem mais sujeitos a traumas nas unhas e nos pés e utilizarem mais frequentemente sapatos que potenciam a oclusão do pé (Garg, Venkatesh e Singh, 2004). No entanto, estas justificações poderão não ser as apropriadas, tendo em conta que os trabalhadores em causa estariam sujeitos, de igual forma, aos aspectos mencionados.

Vários estudos evidenciam maior frequência de *Tinea pedis* e *Tinea unguium* nos homens do que nas mulheres (Garg, Venkatesh e Singh, 2004; Padilla, Sampedro e Sampedro, 2002; Perea, Ramos e Garau, 2000), justificando a maior frequência de isolamento de Dermatófitos no género masculino. Através de estudos realizados por Heikkilä e Stubb (1995), Del Palácio, Pazos e Cuétara (2001), Gupta, Cooper e MacDonald (2001), Nelson, Martins e Heffermast (2004), Kazemi (2007) e Verr, Patwardhan e Damle (2007), para o caso da onicomicose, verificou-se também que esta é mais frequente em homens do que em mulheres.

Contudo, noutros estudos, realizados por Sais, Jucglà e Peyrí (1995) e por Abanmi, Bakheshwain e El Khizzi (2008), os resultados foram opostos, sendo os mesmos justificados pelo facto de as mulheres utilizarem sapatos que favorecem o traumatismo das unhas. No presente estudo verificou-se que as mulheres apresentaram maior predisposição para lesão nas unhas, enquanto que os homens evidenciaram maior tendência para lesão nos interstícios dos dedos.

As associações significativas ($p < 0,05$) verificadas entre lesão visível e isolamento de Dermatófitos e lesão visível e fungos isolados são confirmadas por vários estudos pois, apesar de existir grande diversidade de agentes etiológicos, a maioria dos autores diagnostica como mais frequentes os Dermatófitos (Bassiri-Jahromi e Khaksari, 2009; Garg, Tilak e Garg, 2009). Esta situação é também reforçada com a aplicação da medida de força de associação *Odds Ratio*, em que se constatou que os trabalhadores com lesão visível possuíam 7 vezes mais predisposição para a presença de Dermatófitos.

Apesar de não existir associação significativa ($p > 0,05$) entre género e lesão visível, mesmo com a diferença entre a distribuição de frequências de lesão visível nos dois géneros, esta situação pode ser justificada pelo facto de existirem portadores assintomáticos que apresentam isolamento fúngico, mas não apresentam lesão visível (Attye, Auger e Joly, 1990; Becerril-Chihu, Bazan-Mora e Lopez-Martinez, 1999; Iglesias-Hernández, Martínez-Machin e

Perurena-Lancha, 2009; Oyeka e Ugwu, 2002). Esta situação verificou-se, pois em 4 (8,9%) trabalhadores sem lesão visível foram isolados Dermatófitos, confirmando-se assim a existência de portadores sãos.

A associação significativa ($p < 0,05$) verificada entre lesão visível e horas semanais de trabalho e entre lesão visível e tempo de profissão comprova a influência da duração da exposição ao factor de risco (contaminação fúngica do ambiente profissional) para a presença de lesão visível nos trabalhadores expostos (*Tinea pedis* e onicomicose). Desta forma, ficou demonstrada a relação entre a exposição ao factor de risco em estudo – exposição profissional a fungos – com os efeitos para a saúde (Uva, 2006a). Importa ainda salientar que a relação entre lesão visível e tempo de profissão foi reforçada com a aplicação do *Odds Ratio*, em que se constatou que por cada ano a mais de tempo de serviço há um aumento de 1,1% na predisposição para a presença de lesão visível.

Não se verificou associação significativa ($p > 0,05$) entre as variáveis que caracterizam o tempo de exposição (tempo de profissão e horas semanais de trabalho) e o isolamento fúngico e os fungos isolados, algo esperado pelo facto de também não se ter verificado associação significativa entre lesão visível e o isolamento fúngico. No entanto, esta situação não deve colocar em causa a relação mencionada anteriormente, pois existem alguns factores que podem, isoladamente ou em conjunto, influenciar os resultados laboratoriais obtidos, nomeadamente: a realização de apenas uma única colheita nas unhas dos pés de cada trabalhador que pode dificultar o isolamento da espécie fúngica (Meireles, Rocha e Brilhante, 2008) e a utilização dos métodos convencionais e de temperaturas de incubação que podem ser inibidores de algumas espécies fúngicas e favorecer o crescimento de outras (Zorman e Jerseck, 2008).

Apesar dos trabalhadores que realizam a sua actividade profissional calçados apresentarem menor frequência de lesão (45,1%) do que os que realizam algumas das actividades, ou todas, com os pés descalços (“mistos”) (52,0%), estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Esta situação pode ser devido à existência de outras variáveis da situação de trabalho, além de andar descalço, que condicionam a presença de lesão visível, nomeadamente: duração da exposição, outras características intrínsecas das actividades desenvolvidas, traumatismo da unha, maceração da pele, sudação excessiva devido à oclusão do pé e estado imunológico (Elewski, 2000; Macura, 1993; Ninomiya, 2000; Singh, 2001; Ungpakorn, 2005; Alvarez, González e Castro, 2004; Attye, Auger e Joly, 1990; Braham, Ezzine-Sebai e Arrese, 2001; Cestari, Abdalla e Assis, 1990; Ellis, Watson e Marley, 1997a, 1997b; Ninomiya, Ide e Ito, 1998; Purim, Bordignon e Queiroz-Telles, 2005; Veer, Patwardhan e Damle, 2007).

As mesmas justificações poderão explicar a ausência de associação significativa ($p>0,05$) entre a presença de lesão visível e o andar descalço e entre a presença de lesão visível e a utilização de piscinas nos tempos livres, apesar de ambas as situações estarem amplamente descritas como factores de risco para a *Tinea pedis* e a onicomiose (Gentles, 1956; Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003; Brandi, Sisti e Paparini, 2007; Caputo, De Boulle e Del Rosso, 2001; Detandt e Nolard, 1995; Drouhet, Marcel e Labonde, 1967; English e Gibson, 1959; Kamihama, Kimura e Hosokawa, 1997; Maruyama, Hiruma e Yamauchi, 2003).

2.3.2 - Variáveis ambientais

Não foi evidenciada nenhuma relação estatisticamente significativa ($p>0,05$) entre a contaminação fúngica do ar (UFC/m³) e as variáveis ambientais avaliadas, estando deste modo em sintonia com os resultados obtidos nos estudos de Burge, Pierson e Groves (2000), Aydogdu, Asan e Otkun (2005), Kim, Park e Jang (2007) e Ozkutuk, Ceylan e Ergor (2008), em que também não se verificaram relações significativas entre a temperatura e a humidade relativa e a contaminação fúngica no ar.

Esta situação verificou-se apesar de alguns locais nos estabelecimentos apresentarem humidade relativa superior a 60%, valor considerado como máximo pela US Environmental Protection Agency (Environmental Protection Agency, 2001) e ACGIH (Sterling, Arundel e Sterling, 1985) e segundo a norma Standard 55-1992 (ASHRAE, 1992), de modo a evitar a proliferação fúngica. Além disso, os valores indicados nos requisitos legais nacionais para a temperatura, humidade relativa e velocidade do ar foram também ultrapassados, o que também poderia contribuir para a proliferação fúngica.

No entanto, à semelhança do estudo realizado por Homna, Hayashi e Hasegawa (2009), o género *Penicillium* apresentou relação estatisticamente significativa ($p<0,05$) em relação à temperatura diminuindo com o aumento de temperatura, apesar de nos estudos de Gelincik, Büyükköztürk e Gül (2005) e Crawford, Rosebaum e Anagnost (2009) este género não apresentar associação com a temperatura no exterior. No estudo realizado por Aydogdu, Asan e Otkun (2005), outros fungos apresentaram relação com as variáveis ambientais avaliadas, nomeadamente *Mucor* sp. aumentou significativamente o seu crescimento com humidade relativa elevada e temperatura mais baixa (menos de 21° C) e *Chrysosporium* sp. aumentou o seu crescimento quando a temperatura foi superior a 22° C.

Em oposto, nos estudos realizados por Strachan, Flannigan e McCabe (1990) e por Wong, Mui e Hui (2008) verificou-se aumento da contaminação fúngica no ar, quando os estabelecimentos monitorizados apresentaram temperatura e humidade relativa elevadas.

Noutros estudos, realizados por Sarica, Asa e Otkun (2002) e Hayashi e Osawa (2009), verificou-se correlação entre a contaminação fúngica do ar e a temperatura e nos estudos realizados por Gelincik, Büyüköztürk e Gül (2005) e Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005) verificou-se influência positiva entre as UFC/m³ e a humidade relativa, não se tendo verificado a mesma situação com a temperatura. Além disso, no estudo de Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005) constatou-se relação inversa entre a contaminação fúngica e a temperatura, à semelhança do que aconteceu com o género *Penicillium* no presente estudo.

Ando, Yoshino e Takaki (2009) verificaram que as espécies fúngicas, apesar de serem influenciadas pela temperatura e pela humidade relativa, a última condicionava mais o desenvolvimento fúngico do que a temperatura e Crawford, Rosebaum e Anagnost (2009) verificaram que a temperatura e a humidade relativa condicionavam o total de UFC/m³, mas nem todas as espécies fúngicas apresentavam essa influência, comprovando-se a variabilidade da influência das variáveis ambientais estudadas.

Também não se verificou relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre o número de ocupantes e a contaminação fúngica no ar, à semelhança dos resultados obtidos no estudo realizado por Ozkutuk, Ceylan e Ergor (2008), apesar de Jo e Seo (2005) e Lu, Lu e Zhang (2009) afirmarem que os espaços com maior ocupação apresentam maior contaminação fúngica no ar. A disseminação de estruturas fúngicas viáveis e de esporos está muito dependente das suas dimensões (Aydogdu, Asan e Otkun, 2005), das suas características biológicas (Gomes, 2002; Lugauskas e Krikstaponis, 2004), da temperatura do ar, disponibilidade de oxigénio, presença de nutrientes, textura das superfícies (Becker, 1994) e vibrações das superfícies (Górny, Reponen e Grinshpun, 2001) e não apenas do número de ocupantes, podendo-se assim justificar a inexistência da relação no presente estudo.

No que concerne à contaminação fúngica das superfícies, quanto aos resultados sobre a influência das variáveis ambientais avaliadas (temperatura e humidade relativa), verificou-se que a relação entre a contaminação fúngica e as variáveis ambientais não é significativa ($p > 0,05$), tendo-se também analisado a influência conjunta das variáveis ambientais avaliadas e constatado que a relação também não é estatisticamente significativa, o que poderá eventualmente ter resultado de variáveis de confundimento não investigadas neste estudo (Viegas, Alves e Carolino, 2009).

Contudo, ao contrário do que ocorreu com a contaminação fúngica do ar e de acordo com o estudo de Brenier-Pinchart, Lebeau e Quesada (2009), verificou-se influência do número total de ocupantes que frequentaram cada um dos estabelecimentos nas médias das UFC/m² de

fungos leveduriformes e de fungos filamentosos nas superfícies antes da lavagem e desinfecção, tendo-se verificado relação estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Esta situação pode dever-se ao facto dos próprios utentes e trabalhadores transportarem grande diversidade de espécies fúngicas no calçado (Wergikoski, 2004; Buttner e Stetzenbach, 1993; Codina, Fox e Lockey, 2008; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Ekhaise, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956), estando a aerossolização da contaminação fúngica, ou seja, a contaminação fúngica do ar, dependente de outras variáveis, designadamente fúngicas e ambientais (Becker, 1994; Górný, 2004; Górný, Reponen e Grinshpun, 2001; Górný, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008).

Em relação à contaminação fúngica das superfícies no estabelecimento seleccionado e quanto aos resultados sobre a influência das variáveis ambientais avaliadas, verificou-se que a relação entre a contaminação fúngica e a temperatura e humidade relativa não é significativa ($p > 0,05$) em ambas as estações do ano, à semelhança de outros estudos (Aydogdu, Asan e Otkun, 2005; Kim, Park e Jang, 2007; Ozkutuk, Ceylan e Ergor, 2008).

Nesse mesmo estabelecimento, ao contrário do que se verificou em estudos internacionais (Wergikoski, 2004; Buttner e Stetzenbach, 1993; Codina, Fox e Lockey, 2008; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Ekhaise, Ighosewe e Ajakpovi, 2008; Lu, Lu e Zhang, 2009; Lugauskas, Krikstaponis e Seskauskas, 2003; Lugauskas e Krikstaponis, 2004; Pastuszka, Paw e Lis, 2000; Scheff, Paulius e Curtis, 2000; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956) e nos resultados obtidos nos 10 estabelecimentos (Viegas, Alves e Carolino, 2009), não se constatou influência dos ocupantes nas médias de UFC/m² das superfícies antes da lavagem e desinfecção em ambas as estações de ano, verificando-se no Inverno uma correlação negativa, apesar da evidência contrária constante noutros artigos já referidos.

Não se verificou correlação entre os resultados quantitativos da contaminação fúngica do ar e a das superfícies nos 10 estabelecimentos monitorizados, à semelhança do estudo realizado por Klánová e Hollerová (2003), mas em oposto aos estudos realizados por Lu, Lu e Zhang (2009) e Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret (2009), justificando por isso a necessidade de caracterizar ambas, de modo a avaliar a qualidade do ambiente interior em matéria de contaminação fúngica (Klánová e Hollerová, 2003). No presente estudo, a frequência de isolamento de fungos no ar e superfícies dos estabelecimentos monitorizados não é semelhante, pois a mesma está condicionada pela dispersão de esporos fúngicos que varia com as

características fúngicas e com as variáveis ambientais (Górny, 2004; Górny, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008).

Verificou-se que existiam diferenças significativas, com o intervalo de confiança de 90% ($p < 0,1$), entre a contaminação fúngica das superfícies e a do ar e que 50% dos valores mais baixos são superiores na contaminação fúngica do ar, à semelhança do estudo realizado por Brenier-Pinchart, Lebeau e Mallaret (2009), em que a contaminação fúngica do ar também se apresentou estatisticamente superior à das superfícies. Todavia, a contaminação fúngica das superfícies apresentou-se com maior variabilidade quantitativa do que a contaminação fúngica do ar, reforçando a necessidade não só de monitorizações constantes às superfícies neste contexto profissional específico, mas também da aplicação da metodologia, sugerida no presente estudo, para estabelecer padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies.

Qualitativamente, apenas se verificou coincidência num dos 3 géneros mais isolados, sendo o género *Penicillium* o segundo mais isolado nas superfícies e no ar. Verificou-se também que a espécie *Stachybotrys chartarum* não foi identificada nas colheitas de ar, mas foi isolada em colheitas de superfícies realizadas nos mesmos espaços, apesar de com pouca expressão, tendo o mesmo ocorrido em outros estudos, segundo Cooley, Wong e Jumper (1998). Os esporos molhados são frequentemente associados com colónias visíveis existentes em paredes e superfícies e os fungos, como por exemplo *Stachybotrys chartarum*, podem ser encontrados mais facilmente em paredes e superfícies do que no ar (Duchaine e Mériaux, 2001).

Importante ainda referir que, segundo Almeida, Tavares e Cano (2009), quando os fungos isolados nas colheitas de ar interior são iguais aos isolados nas superfícies, mas diferentes dos isolados no ar exterior, significa que a contaminação fúngica advém exclusivamente das superfícies. No entanto, esta situação apenas se verificou para o género *Penicillium* e este também foi isolado no exterior, o que elimina a possibilidade da contaminação fúngica ser proveniente, apenas, das superfícies.

É necessário, por isso, que a avaliação ambiental, no que concerne à contaminação fúngica, contemple a monitorização fúngica do ar e das superfícies, como realizado no presente estudo, pois a colheita de amostras de ar, sem a complementaridade de colheitas de amostras de superfícies, pode não ser suficiente para identificar correctamente a contaminação micológica do contexto profissional em análise (Buttner e Stetzenbach, 1993; Cooley, Wong e Jumper, 1998; Duchaine e Mériaux 2001; Samson, Hoekstra e Frisvad, 2000; Srikanth, Sudharsanam e Steinberg, 2008).

2.4 - Diferenças significativas na contaminação fúngica das superfícies entre antes e depois da lavagem e desinfecção e entre o Verão e o Inverno

Em relação aos resultados obtidos nos 10 estabelecimentos monitorizados quanto à diversidade de espécies, em relação aos fungos filamentosos, antes da lavagem e desinfecção isolaram-se 29 fungos diferentes e, depois desses procedimentos, foram identificados 25 fungos diferentes. No caso dos fungos leveduriformes, 10 fungos diferentes foram identificados antes da lavagem e desinfecção e depois foram identificados 11 fungos diferentes.

Verificou-se aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) depois da lavagem e desinfecção na quantidade de fungos filamentosos nas escadas de acesso à zona envolvente à piscina e junto ao *jacuzzi* e ainda na quantidade de fungos leveduriformes nos balneários e vestiários masculinos. Apenas se verificou redução significativa depois da lavagem e desinfecção nos balneários e vestiários masculinos em relação aos fungos leveduriformes.

Estas situações podem dever-se, eventualmente, ao facto dos procedimentos de lavagem e desinfecção e dos produtos utilizados não serem os mais adequados e devido ao facto de poderem ocorrer contaminações cruzadas decorrentes da utilização comum dos materiais utilizados noutros estabelecimentos. As mesmas justificações poderão também explicar o facto de surgirem espécies fúngicas, depois da lavagem e desinfecção, diferentes das isoladas antes dos mesmos procedimentos.

No estudo de Brenier-Pinchart, Lebeau e Quesada (2009), realizado em hospitais franceses, verificou-se diminuição da contaminação fúngica das superfícies depois da lavagem e desinfecção, tendo os autores sugerido que esses procedimentos seriam os mais adequados. Contudo, outros estudos constataram também contaminação fúngica mesmo após as operações de lavagem e desinfecção (Seebacher, Bouchara e Mignon, 2008), devido ao facto de o crescimento fúngico poder ocorrer em quase todo o lado em consequência da capacidade destes microrganismos sobreviverem e propagarem-se (Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003). Além disso, Menetrez, Foarde e Webber (2009) reconhecem que a remoção total da contaminação fúngica em superfícies nem sempre é possível.

No estabelecimento seleccionado verificou-se diversidade qualitativa da contaminação fúngica entre antes e depois da lavagem e desinfecção e entre ambas as estações do ano. No Inverno, em relação aos fungos filamentosos ALD, isolaram-se 18 fungos diferentes e DLD foram identificados 11 fungos diferentes. Relativamente aos fungos leveduriformes, 9 fungos diferentes foram identificados ALD e DLD foram identificados 7 fungos diferentes, identificando-se, além dos presentes antes da lavagem e desinfecção, um fungo diferente. No Verão, em relação aos fungos filamentosos, foram identificados ALD 17 fungos diferentes e DLD das superfícies foram

identificados 13 fungos diferentes. Relativamente aos fungos leveduriformes, 10 fungos diferentes foram identificados ALD e DLD foram identificados 9 fungos diferentes.

Foi possível verificar que ocorreu alteração estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre antes e depois da lavagem e desinfecção no total de UFC/m² nas escadas de acesso no Inverno, nos balneários e vestiários masculinos no Verão e junto ao tanque principal e *jacuzzi*, ambos no Verão e ainda nas UFC/m² de fungos leveduriformes nos balneários e vestiários masculinos no Inverno. Contudo, além de ocorrer redução da contaminação fúngica DLD apenas nas escadas de acesso no Inverno e nos balneários e vestiários masculinos no Verão e em relação apenas ao total de UFC/m², também foram isolados fungos diferentes DLD, constatando-se novamente a ineficácia dos procedimentos de lavagem e desinfecção, apesar dos materiais utilizados nesses procedimentos serem unicamente utilizados no estabelecimento seleccionado. Esta situação pode ser explicada devido à eventual contaminação cruzada interna, causada pelo transporte de fungos através dos materiais utilizados em outras áreas do próprio estabelecimento que não foram monitorizadas no presente estudo.

Nesse mesmo estabelecimento, foi possível verificar que ocorreu aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no Inverno nas escadas de acesso à zona envolvente à piscina em relação aos fungos leveduriformes e nos fungos filamentosos ALD e DLD; nos balneários e vestiários masculinos em relação aos fungos leveduriformes DLD; junto ao tanque principal em relação aos fungos leveduriformes ALD e DLD e em relação aos fungos filamentosos DLD; junto ao *jacuzzi* em relação aos fungos leveduriformes ALD e aos fungos filamentosos DLD. A única excepção verificada, com um aumento do total de UFC/m² ALD no Verão, ocorreu nos balneários e vestiários masculinos, à semelhança do constatado por Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous (2003) num estudo realizado em piscinas, em que se verificou maior incidência de contaminação fúngica nos meses de Primavera e Verão.

Noutros estudos realizados, mas em relação à contaminação fúngica do ar, também se verificou um aumento da contaminação fúngica no Verão, nomeadamente: Panagopoulou, Filioti e Petrikos (2002) e Martins-Diniz, da Silva e Miranda (2005) em hospitais e Ramachandran, Adgate e Banerjee (2005) em escolas do primeiro ciclo, tendo Bueno, Silva e Oliver (2003) constatado menor número de UFC/m³ nos meses de menor temperatura. No entanto, Augustowska e Dutkiewicz (2006), em instalações de um hospital, verificaram variação sazonal bastante significativa em relação à contaminação fúngica com o pico superior a ocorrer em Novembro e o inferior em Maio e Mentese, Rad e Arisoy (2009), num estudo realizado numa universidade turca, constataram maior número de UFC/m³ no Inverno.

Em estudos em que foram realizadas colheitas de ar e de superfícies como, por exemplo, no de Santour, Dalle e Olivieri (2009) e de Brenier-Pinchart, Lebeau e Quesada (2009), verificou-se um aumento da contaminação fúngica durante o período do ano mais quente. Ambos os estudos referem que os resultados podem ser devido à entrada de fungos do exterior (por existirem esporos em maior quantidade) ou devido a outras variáveis, como o funcionamento dos sistemas de ar condicionado.

Os resultados obtidos no presente estudo, em relação ao predominante aumento da contaminação fúngica das superfícies no Inverno e ainda pelo facto de terem sido isolados mais fungos leveduriformes do que fungos filamentosos antes e depois da lavagem e desinfecção, são contrários a outros estudos realizados (Brenier-Pinchart, Lebeau e Quesada, 2009; Bueno, Silva e Oliver, 2003; Kordbacheh, Zaini e Kamali, 2005; Martins-Diniz, da Silva e Miranda, 2005; Panagopoulou, Filioti e Petrikos, 2002; Ramachandran, Adgate e Banerjee, 2005; Santour, Dalle e Olivieri, 2009). Esta situação indica que a avaliação da exposição a fungos nos diferentes contextos profissionais carece de um estudo exaustivo sobre as variáveis que potenciam a contaminação, pois o comportamento da flora micológica, em relação às suas variações sazonais, predominância de espécies e ainda resistência aos procedimentos e produtos de lavagem e desinfecção, é bastante variável.

2.5 - Limites quantitativos e qualitativos para a contaminação fúngica

Para aferir se os limites quantitativos e qualitativos sugeridos internacional e nacionalmente para a contaminação fúngica são cumpridos, foi necessário realizar avaliação qualitativa e quantitativa dos dados obtidos. Assim, em relação à avaliação qualitativa da contaminação fúngica do ar, é sugerido por Samson (1994, citado por Goyer, Lavoie e Lazure, 2001) que, entre outras espécies, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor* e espécies dos géneros *Trichoderma*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Fusarium* e *Ulocladium*, todas elas isoladas no estudo, sejam consideradas como indicadores de problemas de humidade ou potencial risco para a saúde.

Também segundo o Guia realizado pela AIHA, em 1996, para a determinação de contaminação biológica em amostras de ar, a presença confirmada das espécies *Stachybotrys chartarum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Fusarium moniliforme* implica a implementação de medidas correctivas. Neste estudo identificaram-se as três espécies do género *Aspergillus* referidas, nos balneários e vestiários femininos e masculinos e na nave da piscina em mais do que um dos estabelecimentos monitorizados. *Stachybotrys chartarum* foi isolado nas superfícies, estando a sua aerossolização dependente de variáveis

fúngicas e ambientais já referidas (Becker, 1994; Górný, 2004; Górný, Reponen e Grinshpun, 2001; Górný, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008).

Relativamente à avaliação quantitativa (UFC/m³), Miller, Laflamme e Sobol (1988), depois de estudarem o ambiente fúngico em casas canadianas durante o Inverno, propuseram a implementação de medidas correctivas sempre que se verificassem, num espaço, uma ou mais das seguintes condições: a) >50 UFC/m³ de uma única espécie fúngica; b) >150 UFC/m³ se forem isoladas várias espécies fúngicas; c) >300 UFC/m³ se existirem principalmente fungos filamentosos. A primeira situação, alínea a), verificou-se em relação ao género *Cladosporium* nos balneários e vestiários masculinos em dois dos estabelecimentos monitorizados. Burge, Pierson e Groves (2000) também referem que, para o género *Cladosporium*, 200 UFC/m³ indicam intrusão da contaminação fúngica proveniente do exterior, não se tendo verificado esta situação em nenhum dos estabelecimentos monitorizados.

Nathanson, em 1993, refere que a presença confirmada de *Stachybotrys* sp. ou *Fusarium* sp. no ar é inaceitável. O género *Fusarium* foi isolado no ar e o género *Stachybotrys* foi isolado nas superfícies do presente estudo, sendo que a presença deste último no ar dependerá, como já foi referido, da influência de variáveis ambientais e fúngicas (Becker, 1994; Górný, 2004; Górný, Reponen e Grinshpun, 2001; Górný, Reponen e Willeke, 2002; Roussel, Reboux e Bellanger, 2008). Nathanson (1993) refere também, à semelhança de Miller, Laflamme e Sobol (1988), que mais de 50 UFC/m³ de uma única espécie carece de investigação aprofundada, tendo-se verificado esta situação relativamente ao género *Cladosporium*.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que a quantidade de 150 UFC/m³ é uma causa de preocupação, especialmente se forem encontradas espécies potencialmente patogénicas e sugere a inaceitabilidade de algumas espécies isoladas neste estudo (Goyer, Lavoie e Lazure, 2001). Outros limites quantitativos são sugeridos por diversos autores, nomeadamente por Holmberg (1984) - 2200 UFC/m³; Morey, Hodgson e Sorenson (1984) - 1000 UFC/m³; Ohgke, Geers e Beckert (1987) - 100 UFC/m³; Burge (1990) - 1000 UFC/m³; Reynolds, Streifel e McJilton (1990) - 500 UFC/m³; Godish (1991) - 1000 UFC/m³; Yang, Hung e Lewis (1993) - 200 UFC/m³; Hurst, Knudsen e McInermey (1997) - 100 UFC/m³; Robertson (1997) - 300 UFC/m³; Klánová (2000) - 2000 UFC/m³, não sendo nenhum ultrapassado nos estabelecimentos monitorizados.

Rao, Burge e Chang (1996) referem que, quando existem directrizes quantitativas delineadas por entidades governamentais, para fungos existentes no ar, geralmente não se baseiam em efeitos sobre a saúde e são absolutos (numéricos), relativos (quociente entre os níveis interiores com os exteriores) ou a combinação dos dois. Os níveis da contaminação

fúngica no ar podem ir desde 100 UFC/m³ a 1000 UFC/m³. Estes podem ser considerados baixos (1 a 499 UFC/m³), médios (500 – 999 UFC/m³) ou altos (\geq 1000 UFC/m³). Tendo em conta este critério, todos os espaços monitorizados neste estudo apresentaram níveis baixos de contaminação fúngica. No entanto, considerando o quociente entre os níveis de contaminação fúngica interiores com os exteriores (devendo este ser menor que 1), num dos estabelecimentos o quociente foi superior a 1, indicando, por isso, a existência de fontes interiores de contaminação.

A qualidade do ar interior, quando significativamente diferente da do exterior, poderá também significar que existe um problema de infiltrações e de potenciais efeitos na saúde (Kemp, Neumeister-Kemp e Murray, 2002). Neste estudo, no que se refere à comparação quantitativa, em dois locais a avaliação realizada no interior apresentou maior número de UFC/m³ do que no exterior. Nas restantes avaliações, todos os espaços interiores apresentaram menor número de UFC/m³ do que no exterior.

Esta situação poderá ter sido condicionada pelo facto de todos os estabelecimentos monitorizados estarem providos de sistemas de ar condicionado que, segundo diversos autores, podem reduzir os esporos fúngicos ou mesmo eliminá-los no ar interior (Barnes e Rogers, 1989; Buttner e Stetzenbach, 1993; Cornet, Levy e Fleury, 1999; Curtis, Ross e Persky, 2000; Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau, 2002; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Kodarna e Mcgee, 1986; Oren, Haddad e Finkelstein, 2001; Parat, Perdrix e Fricker-Hidalgo, 1997; Solomon, Burge e Boise, 1980; Van den Bergh, Verweij e Voss, 1999; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956). Segundo Kemp, Neumeister-Kemp e Esposito (2003), a redução dos esporos fúngicos pode ser até 50%.

Importa ainda referir que, de acordo com Nevalainen (2007), o ar exterior é uma das principais fontes de fungos no ambiente interior, sendo por esse motivo justificável a coincidência entre os géneros predominantes no interior com os do exterior. No entanto, todos os 10 estabelecimentos apresentaram, num ou mais espaços, fungos diferentes dos isolados no exterior, sugerindo contaminação fúngica proveniente do interior (Kemp, Neumeister-Kemp e Murray, 2002). Esta situação pode dever-se também aos sistemas de ar condicionado por poderem funcionar como reservatórios e veículos de disseminação para algumas espécies fúngicas (Pejtersen, 1996; Beggs e Kerr, 2000) e contribuírem para a criação de condições para a proliferação fúngica (Horner, 2003; Wang, Chen e Zhang, 2001).

A nível nacional, a concentração máxima de referência de 500 UFC/m³ no ar não é ultrapassada em nenhum dos espaços avaliados, pois a contaminação fúngica mais elevada, que ocorreu num dos balneários e vestiários masculinos, foi de 95 UFC/m³. No entanto, a Nota Técnica NT-SCE-02 de 2009 (Sistema de Certificação Nacional, 2009), que adopta alguns dos

critérios estabelecidos por Miller, Laflamme e Sobol (1988), sugere parecer de não conformidade quando se verifique a concentração fúngica no interior superior à detectada no exterior, tendo esta situação sido verificada em dois locais. Além disso, verificou-se a presença de fungos como *Fusarium* sp., *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger* no interior dos estabelecimentos monitorizados, sendo estas indicadoras de não conformidade, segundo a mesma norma.

Em relação aos resultados provenientes da contaminação fúngica nas superfícies, apesar de não se conhecerem limites nacionais, é importante salientar que alguns dos fungos isolados no presente estudo podem ser agentes etiológicos de dermatomicoses, nomeadamente *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* (Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003), *Candida* sp., *Trichosporon* sp. e *Cryptococcus* sp. (Araújo, Souza e Bastos, 2003), *Fusarium* sp. *Scytalidium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Phoma* sp. (Gianni, Cerri e Crosti, 2000), devendo, por esse motivo, a sua evidência ser considerada como factor de risco. Além disso, espécies reconhecidamente patogénicas, como *Cryptococcus neoformans* e toxigénicas como *Stachybotrys chartarum*, foram também isoladas nas superfícies analisadas no presente estudo.

2.6 - Padrão de exposição profissional a fungos nas superfícies

Em relação ao método criado e aplicado, mais especificamente sobre o critério Gravidade e à semelhança do estudo realizado por Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau (2002), considerou-se que a gravidade da contaminação e, conseqüentemente, da possível lesão, está intimamente relacionada com o fungo envolvido. Assim, apesar de no estudo de Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau (2002) se ter considerado unicamente uma espécie (*Aspergillus fumigatus*), no presente estudo foram considerados os agentes etiológicos da *Tinea pedis* e onicomicose mais referenciados, nomeadamente os Dermatófitos (80 a 90%), seguidos pelas Leveduras (5 a 17%) e, por fim, FFND (2 a 12%) (Haneke, 1991; Kemna e Elewski, 1996; Perea, Ramos e Garau, 2000).

Foram calculadas as médias da contaminação fúngica por cada estabelecimento antes da lavagem e desinfecção, de modo a estabelecer os níveis de frequência, apesar de no estudo realizado por Faure, Fricker-Hidalgo e Lebeau (2002) o valor de frequência mínimo ter sido o menor resultado obtido (1UFC/m³ por sala), estabelecendo-se um valor máximo de isolamento para estabelecer a necessidade de intervenção, pois nesse estudo foram obtidos vários resultados (86,2%) com esse mesmo valor.

Com o método aplicado, foi possível classificar com Nível de Risco Mínimo 65 locais (54,2%), com Nível de Risco Médio 23 locais (19,2%) e com Nível de Risco Elevado 32 locais (26,6%).

Em relação à distribuição pelos Níveis de Risco, ALD constatou-se maior número de estabelecimentos classificados no Nível de Risco Médio do que DLD, no entanto, DLD verificou-se maior número de estabelecimentos classificados no Nível de Risco Elevado. Verificou-se também que nos Estúdios não ocorreu nenhuma classificação de Risco de Infecção Elevado e que próximo do *jacuzzi* e junto ao tanque foram os locais com mais classificações de Risco de Infecção Elevado. Segundo os trabalhadores inquiridos, junto ao tanque é o segundo local onde andam mais frequentemente descalços (logo a seguir aos balneários e vestiários), sendo por isso identificada a exposição acrescida destes trabalhadores a fungos nas superfícies.

Além disso, essa mesma exposição deverá estar subestimada, pois 114 dos 124 trabalhadores desenvolvem outras actividades físicas além das desenvolvidas em contexto profissional, pois necessitam de treinar constantemente para estarem aptos fisicamente para o desenvolvimento da sua actividade profissional, contribuindo desta forma para uma maior exposição ao risco, pois a actividade física está relacionada com prevalências elevadas de *Tinea pedis* e onicomicose (Kamihama, Kimura e Hosokawa, 1997).

Com a aplicação do mesmo método, em que foram realizadas colheitas de superfícies num único estabelecimento ALD e DLD em 2 estações do ano, verificou-se que no Verão DLD ocorreu maior número de locais classificados no Nível de Risco Elevado e no Inverno constatou-se a situação inversa, tendo sido observado maior número de locais com Risco Elevado ALD. Junto ao tanque e nas escadas foram os locais com mais classificações de Risco de Infecção Elevado no Verão e no Inverno.

A variabilidade/susceptibilidade individual não é contemplada na metodologia que se propõe no presente estudo, devendo esta situação ser considerada como limitação pois, no caso da exposição a fungos, foi demonstrado que os factores genéticos desempenham um papel importante na susceptibilidade à onicomicose (Sigurgeirsson e Steingrimsson, 2004). A susceptibilidade individual é um aspecto que importa considerar no processo de avaliação do risco mas, até ao momento, verifica-se esta limitação em todas as metodologias que não pretendam realizar uma avaliação do risco para um indivíduo específico.

Por último, outro aspecto a considerar na aplicação desta metodologia é o facto de, embora se tenha considerado, em relação ao critério da Gravidade, a presença de Dermatófitos nas superfícies como a situação mais grave, devido ao facto de a maioria dos autores os diagnosticar como agentes etiológicos mais frequentes da *Tinea pedis* e onicomicose (Haneke,

1991; Kemna e Elewski, 1996; Perea, Ramos e Garau, 2000), não quer dizer que outros fungos (Leveduras e FFND) não causem também as patologias mencionadas nos trabalhadores em causa, com a mesma frequência e ou gravidade.

Os resultados obtidos, com a aplicação do método proposto, podem também justificar a prevalência elevada de lesão visível (*Tinea pedis* 18,5% e onicomicose 19,4%; total 46,8%) nos trabalhadores que pertenceram à amostra, quando comparados com outros estudos, designadamente nos estudos realizados por Heikkilä e Stubb (1995), em que se verificou prevalência de 13% de onicomicose nos homens, 4,3% nas mulheres e 8,4% na população em geral, incluindo crianças; Gupta, Jain e Lynde (1997) em que se observou prevalência de onicomicose de 9,1%; Abeck, Haneke e Nolting (2000) em que se constatou prevalência de onicomicose de 12,4%; Bramono (2001) em que se verificou prevalência de onicomicose de 3,8%; Cheng e Chong (2002) em que se obteve prevalência de onicomicose de 7,9%; Murray e Dawber (2002) em que se constatou, na população mundial, prevalência de onicomicose de 5%; Hamnerius, Berglund e Faergemann (2004) em que o grupo controlo apresentou prevalência de *Tinea pedis* de 7,8% e de onicomicose de 2,4% e Handog e Dayrit (2005) em que se observou prevalência de *Tinea pedis* de 16,4%.

A diferença acentuada entre as prevalências de *Tinea pedis* e onicomicose nos trabalhadores dos ginásios com piscina em relação a outros grupos populacionais, confirma a existência de grave problema de Saúde Ocupacional no grupo profissional estudado. Além disso, noutros estudos realizados, também envolvendo profissionais do desporto, verificaram-se prevalências semelhantes às do presente estudo como, por exemplo, em nadadores (prevalência de *Tinea pedis* de 15 a 20%), maratonistas (prevalência de *Tinea pedis* de 22%) (Gudnadóttir, Hilmarsdóttir e Sigurgeirsson, 1999), profissionais do desporto que frequentam balneários e vestiários (prevalência de onicomicose até 20%) (Ellis, Watson e Marley, 1997a).

Em paralelo ao presente estudo, foram realizadas colheitas biológicas a utentes frequentes dos estabelecimentos monitorizados (frequência do estabelecimento de, pelo menos, 3 vezes por semana), tendo-se também verificado prevalência elevada de lesão visível (36,6%), apesar de inferior à dos trabalhadores. Esta situação poderá contribuir para a confirmação de que a contaminação fúngica das superfícies, evidenciada também pelos resultados obtidos através da classificação pelos Níveis de Risco, poderá estar a potenciar a infecção fúngica não só nos trabalhadores desses estabelecimentos, mas também nos próprios utentes.

2.7 - Relação entre a contaminação fúngica das superfícies e a infecção fúngica dos trabalhadores

O presente estudo pretendeu conhecer a contaminação fúngica num contexto ocupacional muito específico, sendo os métodos convencionais os mais adequados para alcançar este objectivo, já que a biologia molecular requer o conhecimento prévio do que se pretende pesquisar, pois apenas permite a identificação de espécies específicas (Douwes, Thorne e Pearce, 2003).

Foi possível com a identificação fúngica, obtida através dos métodos convencionais, conhecer a associação entre a contaminação das superfícies e a infecção dos trabalhadores, à semelhança do estudo realizado por Teles e Rosado (1989). A identificação fúngica foi realizada, sempre que possível, até ao nível da espécie, não só pelo facto dos efeitos adversos sobre a saúde divergirem com as diferentes espécies fúngicas (Pasanen, Juutinen e Jantunen, 1992; Rao, Burge e Chang, 1996; Verhoeff, Van Wijnen e Brunekreef, 1992), mas também porque permite o conhecimento mais pormenorizado e aprofundado em relação às espécies fúngicas envolvidas.

Através da análise realizada, considerando os fungos isolados nos trabalhadores, concluiu-se que ALD 30,3% dos fungos, foram também isolados nas superfícies, enquanto DLD 45,5% dos fungos foram isolados comumente. Importa referir que 4 dos 10 e 8 dos 15 fungos isolados comumente ALD e DLD, respectivamente, foram identificados ao nível da espécie e os restantes ao nível do género.

As Leveduras foram as mais isoladas comumente e as espécies que se verificaram mais frequentes antes e depois da lavagem e desinfecção das superfícies e também nos resultados das colheitas biológicas aos trabalhadores foram *Rhodotorula* sp. e *C. parapsilosis*. Nos trabalhadores que apresentaram lesão visível, as Leveduras foram, novamente, as mais isoladas.

Verificou-se, em relação aos FFND, que o género *Penicillium* foi o mais frequente nas colheitas biológicas e o segundo mais frequentemente isolado, quer nas colheitas de ar como nas colheitas de superfícies, sendo a sua elevada disseminação ambiental possível causa para ser o mais isolado nos trabalhadores.

No total, ALD foram isolados fungos comumente 24 vezes, enquanto DLD verificou-se a mesma situação 28 vezes. O estabelecimento onde se constataram mais fungos comuns ALD foi também o que apresentou ALD mais locais com Nível de Risco Elevado em relação à exposição profissional a fungos, podendo esta situação ser indicadora da adequabilidade do

método, proposto no presente estudo, para estabelecer padrão de exposição profissional a fungos devido à contaminação fúngica das superfícies.

Nos 58 trabalhadores com lesão, as Leveduras foram as mais isoladas (41,4%), apesar de a maioria dos autores diagnosticar como agentes etiológicos mais frequentes os Dermatófitos (Haneke, 1991; Kaur, Kashyap e Bhalla, 2008; Kemna e Elewski, 1996; Perea, Ramos e Garau, 2000; Szepietowski, Reich e Garlowska, 2006; Weitzman e Summerbell, 1995), podendo esta situação ser devido ao facto de terem sido isoladas mais UFC/m² de fungos leveduriformes do que de fungos filamentosos nas superfícies (Viegas *et al.*, , 2010). Além disso, a duração da exposição considera-se crítica, pois os procedimentos de lavagem e desinfecção aplicados às superfícies não apresentaram a eficácia esperada, justificando também a prevalência elevada de *Tinea pedis* e onicomicose nos utentes frequentes.

Estes dados parecem confirmar que a contaminação fúngica das superfícies está relacionada com a infecção fúngica dos trabalhadores, tendo em conta não só a percentagem de fungos isolados comumente, mas também a influência, demonstrada anteriormente, da duração da exposição ao factor de risco (contaminação fúngica do ambiente profissional) para a prevalência de lesão visível nos trabalhadores expostos (*Tinea pedis* e onicomicose).

CAPÍTULO VII

Conclusões e perspectivas futuras

Com o presente estudo, desenvolvido na perspectiva integrada da Saúde Ocupacional, foram alcançados os seguintes objectivos: identificação e quantificação da exposição a fungos; conhecimento da prevalência dos efeitos adversos para a saúde dos trabalhadores (*Tinea pedis* e onicomicose); conhecimento da relação entre os fungos isolados nos locais de trabalho e os isolados nos trabalhadores e, ainda, elaboração e aplicação de uma metodologia de estimativa do risco de ocorrência desses efeitos.

- Foram isolados, nas superfícies analisadas, fungos reconhecidos como agentes etiológicos das patologias estudadas, nomeadamente: Dermatófitos como *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* (Ali-Shtayeh, Khaleel e Jamous, 2003), Leveduras como *Candida* sp., *Trichosporon* sp. e *Cryptococcus* sp. (Araújo, Souza e Bastos, 2003) e Fungos Filamentosos Não Dermatófitos como *Fusarium* sp. *Scytalidium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. e *Phoma* sp. (Gianni, Cerri e Crosti, 2000). Além disso, foram também identificadas espécies fúngicas reconhecidamente patogénicas como *Cryptococcus neoformans* e toxigénicas como *Stachybotrys chartarum*.

No que concerne à contaminação fúngica das superfícies, 37 fungos filamentosos foram isolados. *Fusarium* foi o género mais frequente antes e depois da lavagem e desinfecção (19,1% - 17,2%). Em relação aos fungos leveduriformes, 12 leveduras diferentes foram identificadas, tendo sido os géneros *Cryptococcus* (40,6%) e *Candida* (49,3%) os mais frequentes antes e depois da lavagem e desinfecção, respectivamente.

- Verificou-se elevada prevalência (46,8%) de lesão visível (*Tinea pedis* e onicomicose) nos trabalhadores dos ginásios com piscina.

Além dos que apresentavam lesão visível, é necessário também contabilizar os 4 (8,9%) profissionais sem lesão visível em que foram isolados Dermatófitos, confirmando-se a existência de portadores sãos (Attie, Auger e Joly, 1990; Becerril-Chihu, Bazan-Mora e Lopez-Martinez, 1999; Iglesias-Hernández, Martínez-Machin e Perurena-Lancha, 2009; Oyeka e Ugwu, 2002) e exacerbando os resultados obtidos em relação à prevalência das patologias em causa.

- A prevalência das infecções fúngicas nos trabalhadores (*Tinea pedis* e onicomicose) está relacionada com a presença dos fungos nas superfícies do ambiente de trabalho.

Nos 58 trabalhadores com lesão, as Leveduras foram as mais isoladas (41,4%), podendo esta situação ocorrer devido ao facto de terem sido isoladas mais UFC/m² de fungos leveduriformes do que de fungos filamentosos no ambiente de trabalho, mais especificamente nas superfícies (Viegas, Alves e Carolino, 2010). A prevalência elevada de *Tinea pedis* e onicomicose nos trabalhadores está relacionada com a contaminação das superfícies pelos agentes etiológicos de ambas as patologias, sendo esta situação corroborada com a influência demonstrada da duração da exposição à contaminação fúngica das superfícies, bastante crítica devido à ineficácia dos procedimentos de lavagem e desinfecção aplicados.

- O modelo de avaliação simplificado do risco criado e aplicado, permitiu estimar o risco de infecção fúngica através das superfícies, o que possibilita colmatar a inexistência de limites nacionais no que concerne à contaminação fúngica das superfícies, possibilitando assim uma intervenção mais efectiva no âmbito da vigilância ambiental.

Com a aplicação do modelo foi possível classificar as superfícies analisadas nos 10 estabelecimentos, tendo em conta o risco de infecção fúngica, com Nível de Risco Elevado 32 locais (26,6%) e ainda identificar os locais com mais classificações de Risco de Infecção Elevado, designadamente: próximo do *jacuzzi* e junto ao tanque. No estabelecimento em que se analisaram as variações sazonais, os locais com mais classificações de Risco de Infecção Elevado, tanto no Verão como no Inverno, foram junto ao tanque e nas escadas de acesso.

A implementação de programas de vigilância ambiental no âmbito da contaminação fúngica, com a aplicação do método criado no presente estudo, facilitará o estabelecimento de valores fúngicos de referência e, além disso, permitirá um melhor conhecimento dos mecanismos de transmissão e dispersão destes microrganismos e da variabilidade da flora fúngica em diversos ambientes (Borrego, Carvalho e Miranda, 2009), com a consequente implementação de medidas correctivas adequadas e imediatas (Brocard-Lemort, 2000; Lebeau, Pinel e Grillot, 1998).

- Ficou demonstrado que o risco profissional de infecção fúngica (*Tinea pedis* e onicomicose) é um problema de saúde laboral relevante que exige uma intervenção integrada em Saúde Ocupacional no âmbito da vigilância ambiental e da vigilância da saúde, com o objectivo de diminuir a prevalência das infecções fúngicas. Para a prossecução desse objectivo,

sugere-se, como medida primordial, a criação de Serviços de Saúde Ocupacional que abranjam todos os trabalhadores dos ginásios com piscina. Além disso, aconselha-se a implementação de medidas preventivas ambientais, nomeadamente: controlo da contaminação fúngica das superfícies mediante procedimentos de lavagem e desinfecção eficazes, de modo a minimizar a contaminação fúngica das superfícies; identificação precoce da infecção nos trabalhadores através da realização de colheitas biológicas periódicas, inseridas num protocolo de vigilância da saúde; formação e sensibilização dos trabalhadores para a aplicação de medidas de higiene pessoal e o tratamento atempado das patologias diagnosticadas.

Como perspectivas futuras de investigação científica sugere-se:

- Aprofundar o conhecimento sobre a relação entre a contaminação fúngica ambiental das superfícies dos ginásios com piscina e a infecção fúngica nos trabalhadores (*Tinea pedis* e onicomicose), recorrendo a técnicas de biologia molecular, pesquisando agentes etiológicos específicos nos trabalhadores e no ambiente de trabalho como, por exemplo, os Dermatófitos, visando a confirmação da associação verificada no presente estudo entre lesão visível e isolamento de Dermatófitos, bem como as associações de idêntica natureza confirmadas por outros estudos (Bassiri-Jahromi e Khaksari, 2009; Garg, Tilak e Garg, 2009; Teles e Rosado, 1989);
- Conhecer a influência na proliferação fúngica de variáveis ambientais não analisadas no presente estudo, designadamente o tipo de sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado (Barnes e Rogers, 1989; Buttner e Stetzenbach, 1993; Cornet, Levy e Fleury, 1999; Curtis, Ross e Persky, 2000; Faure, Fricker-Hidalgo, Lebeau, 2002; Greene, Vesley e Bond, 1962a, 1962b; Kodama e McGee, 1986; Oren, Haddad e Finkelstein, 2001; Parat, Perdrix e Fricker-Hidalgo, 1997; Solomon, Burge e Boise, 1980; Van den Bergh, Verweij e Voss, 1999; Hirsch, Lidwell e Williams, 1956) e o tipo de superfícies (Becker, 1994);
- Comparar a avaliação do risco de infecção fúngica dos trabalhadores através dos métodos aplicados no presente estudo (quantitativos e qualitativos) e as novas linhas de investigação que recomendam a monitorização das micotoxinas e ergosterol presentes nos ambientes de trabalho (Bloom, Nyman e Must, 2009; Johanning, Gareis e Landsbergis, 2009);
- Analisar, através da realização de estudos experimentais nos locais de trabalho, a adequabilidade e efectividade dos materiais e métodos de lavagem e desinfecção das

superfícies, tendo em conta que, no presente estudo, não se verificou uma redução de forma sistemática da contaminação fúngica das superfícies depois da aplicação dos procedimentos de lavagem e desinfecção;

- Avaliar a eficácia da vigilância da saúde na identificação precoce das situações de doença e no seu tratamento, na diminuição da prevalência de lesão visível nos trabalhadores e no número de trabalhadores assintomáticos e eventual relação com a prevalência dos fungos isolados nas superfícies dos locais de trabalho;

- Estudar a aplicabilidade do modelo de avaliação simplificado do risco na estimação do risco de infecção fúngica profissional em superfícies contaminadas de outros contextos profissionais reconhecidos como tendo elevado risco de infecção fúngica, nomeadamente: agricultores (Douwes, Thorne e Pearce, 2003; Sahin, Oksuz e Kaya, 2005), veterinários, técnicos de saúde (Douwes, Thorne e Pearce, 2003), produtores de animais e plantas, produtores de alimentos para animais e trabalhadores de serrações (Dutkiewicz, Krysinska-Traczyk e Prazmo, 2001; Lugauskas, Krikstaponis e Sveistyte, 2004).

Referências bibliográficas

- ABANMI, A. ; BAKHESHWAIN, S. ; EL KHIZZI, N. – Characteristics of superficial fungal infections in the Riyadh region of Saudi Arabia. **International Journal of Dermatology**. 47 : 3 (March 2008) 229-235.
- ABECK, D. ; HANEKE, E. ; NOLTING, S. – Onychomykose. **Dt Ärzteblatt**. 97 (2000) A1984-6.
- ADEEB, F. ; SHOOTER, D. – Emission and evolution of air-borne microflora in slaughter houses. **Indoor and Built Environment**. 12 : 3 (2003) 179-184.
- ADHIKARI, A. ; REPONEN, T. ; LEE, S. A. – Assessment of human exposure to airborne fungi in agricultural confinements : personal inhalable sampling versus stationary sampling. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 11 : 2 (2004) 269-277.
- AGUIAR, P. – Guia prático Climepsi de estatística em investigação epidemiológica : SPSS. Lisboa : Climepsi, 2007.
- AHEARN, D. G. ; PRICE, D. L. ; SIMMONS, R. B. – Colonization studies of various HVAC insulation materials. In Proceedings of IAQ '92 Environments for people. Atlanta, GA : ASHRAE, 1992. 101-105.
- AJELLO, L. ; GETZ, M. E. – Recovery of dermatophytes from shoes and shower stalls. **Journal of Investigative Dermatology**. 22 : 1 (January 1954) 17-21.
- ALBERTI, C. ; BOUAKLINE, A. ; RIBAUD, P. – Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. **Journal of Hospital Infection**. 48 : 3 (July 2001) 198-206.
- ALBRIGHT, D. M. – Human health effects of airborne mycotoxins exposure in fungi-contaminated indoor environments. **Professional Safety**. (November 2001) 26-28.
- ALI-SHTAYEH, M. S. ; KHALEEL, T. Kh. ; JAMOUS, R. M. – Ecology of dermatophytes and other keratinophilic fungi in swimming pools and polluted and unpolluted streams. **Mycopathologia**. 156 (2003) 193-205.
- ALMEIDA, G. ; TAVARES, A. ; CANO, M. – Fungal contamination in water damaged homes. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 673.
- AL-SUBAI, A.T. – Air-borne Fungi at Doha, Qatar. **Aerobiologia**. 18 : 3-4 (2002) 175-183.

AL-SUWAINE, A. S. ; HASNAIN, S. M. ; BAHKALI, A. H. – Viable airborne fungi in Riyadh, Saudi Arabia. **Aerobiologia**. 15 : 2 (June 1999) 1221-130.

ALVAREZ, M. I. ; GONZÁLEZ, L. A. ; CASTRO, L. A. – Onychomycosis in Cali, Colombia. **Mycopathologia**. 158 : 2 (August 2004) 181-186.

ALY, R. – Ecology and epidemiology of dermatophyte infections. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 31 : 3 Pt 2 (September 1994) S21-S25.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. COMMITTEE ON ENVIRONMENTAL HEALTH – Toxic effects of indoor molds. **Pediatrics**. 101 : 4 Pt 1 (April 1998) 712-714.

AMERICAN INDUSTRIAL HYGIENE ASSOCIATION (AIHA) – Field guide for the determination of biological contaminants in environmental samples. Fairfax, VA : AIHA, 1996.

ANDERSEN, B. ; NISSEN, A. T. – Evaluation of media for detection of *Stachybotrys* and *Chaetomium* species associated with water-damaged buildings. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 46 : 2 (September 2000) 111-116.

ANDO, N. ; YOSHINO, H. ; TAKAKI, R. – Field survey on indoor microorganism in twenty-five residences in Japan. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 708.

AQUINO, V. R. ; CONSTANTE, C. C. ; BAKOS, L. – Frequência das dermatofitoses em exames micológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 82 : 3 (2007) 239-244.

ARAÚJO, A. J. ; SOUZA, M. A. ; BASTOS, O. M. – Onicomioses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 78 : 4 (2003) 445-455.

ARENAS-GUZMÁN, R. – Dermatofitoses en México. **Revista Iberoamericana de Micología**. 19 (2002) 63-67.

ARENAS-GUZMÁN, R. ; RUVALCABA-PRIEGO, J. ; LEYVA-SANTIAGO, J. – Onicomiosis y diabetes mellitus tipo 2: frecuencia en 143 pacientes ambulatorios. **Dermatologia Revista Mexicana**. 43 (1999) 1-7.

ARUNDEL, A. V. ; STERLING, E. M. ; BIGGIN, J. H. – Indirect health effects of relative humidity in indoor environments. **Environmental Health Perspectives**. 65 (March 1986) 351-361.

ASAN, A. ; ILHAN, S. ; SEN, B. – Airborne fungi and actinomycetes concentrations in the air of Eskisehir City (Turkey). **Indoor and Built Environment**. 13 : 1 (2004) 63-74.

ASHRAE – ASHRAE Standard 55-1992 : Thermal environmental conditions for human occupancy. Atlanta, GA : ASHRAE, 1992.

ASTE, N. ; PAU, M. ; ASTE, N. – Tinea pedis observed in Cagliari, Italy, between 1996 and 2000. **Mycoses**. 46 : 1-2 (February 2003) 38-41.

ATTYE, A. ; AUGER, P. ; JOLY, J. – Incidence of occult athlete's foot in swimmers. **European Journal of Epidemiology**. 6 : 3 (September 1990) 244-247.

AUGER, P. ; MARQUIS, G. ; JOLY, J. – Epidemiology of *Tinea pedis* in marathon runners : prevalence of occult athlete's foot. **Mycoses**. 36 : 1-2 (January-February 1993) 35-41.

AUGUSTOWSKA, M. ; DUTKIEWICZ, J. – Variability of airborne microflora in a hospital ward within a period of one year. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 13 : 1 (2006) 99-106.

AYDOGDU, H. ; ASAN, A. ; OTKUN, M. T. – Monitoring of fungi and bacteria in the indoor air of primary schools in Edirne city, Turkey. **Indoor and Built Environment**. 14 : 5 (2005) 411-425.

BARNES, R. A. ; ROGERS, T. R. – Control of an outbreak of nosocomial aspergillosis by laminar air-flow isolation. **Journal of Hospital Infection**. 14 : 2 (August 1989) 89-94.

BARTLETT, K. H. ; KENNEDY, S. M. ; BRAUER, M. – Evaluation and a predictive model of airborne fungal concentrations in school classrooms. **Annals of Occupational Hygiene**. 48 : 6 (August 2004) 547-554.

BASILICO, M. DE L. ; CHIERICATTI, C. ; ARINGOLI, E. E. – Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. **Science of the Total Environment**. 376 : 1-3 (April 2007) 143-150.

BASSIRI-JAHROMI, S. ; KHAKSARI, A. A. – Epidemiological survey of dermatophytosis in Tehran, Iran, from 2000 to 2005. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**. 75 : 2 (March-April 2009) 142-147.

BEAGLEHOLE, R. ; BONITA, R. ; KJELLSTROM, T. – Epidemiologia básica. Lisboa : Escola Nacional de Saúde Pública, 2003.

BEAUMONT, F. ; KAUFFMAN, H. F. ; DE MONCHY, J. G. – Volumetric aerobiological survey of conidial fungi in North-East Netherlands. II. Comparison of aerobiological data and skin tests with mould extracts in an asthmatic population. **Allergy**. 40 : 3 (April 1985) 181-186.

BECERRIL-CHIHU, G. ; BAZAN-MORA, E. ; LOPEZ-MARTINEZ, R. – How often are dermatophytes present in apparently normal versus scaly feet of children? **Pediatric Dermatology**. 16 : 2 (1999) 87-89.

BECKER, R. – Fungal disfigurement of constructions analysis of the effects of various factors. In SAMSON, R. A. ; FLANNIGAN, B. ; FLANNIGAN, M. E., ed. lit. – Air quality monographs. Vol 2 : Health implications of fungi in indoor environments. Amsterdam : Elsevier, 1994. 361-380.

- BEGGS, C. B. ; KERR, K. G. – The threat posed by airborne micro-organisms. **Indoor and Built Environment**. 9 : 5 (2000) 241-245.
- BERK, S. H. ; PENNEYS, N. S. ; WEINSTEIN, G. D. – Epidermal activity in annular dermatophytosis. **Archives of Dermatology**. 112 : 4 (April 1976) 485-488.
- BEX, V. ; MOUILLESEAU, A. ; CAUSSE, R. – A survey of *Aspergillus* contamination in a hospital during renovation. **Healthy Buildings**. 1 (2000) 359-364.
- BISETT, J. – Fungi associated with urea-formaldehyde foam insulation in Canada. **Mycopathologia**. 99 : 1 (July 1987) 47-56.
- BLOMQUIST, G. ; PALMGREN, U. ; STRÖM, G. – Improved techniques for sampling airborne fungal particles in highly contaminated environments. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**. 10 : 4 (August 1984) 253-258.
- BLOMQUIST, G. ; STRÖM, G. ; STRÖMQUIST, L. H. – Sampling of high concentrations of airborne fungi. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**. 10 : 2 (April 1984) 109-113.
- BLOOM, E. ; NYMAN, E. ; MUST, A. – Determination of mold and mycotoxins in building materials and house dust using mass spectrometry. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 105.
- BOKHARI, M. A. ; HUSSAIN, I. ; JAHANGIR, M. – Onychomycosis in Lahore, Paquistan. **International Journal of Dermatology**. 38 : 8 (August 1999) 591-595.
- BORMAN, A. – Conventional methods *versus* molecular biology. In 4th TRENDS IN MEDICAL MYCOLOGY, Athens, October 18th-21st, 2009.
- BORMAN, A. ; CAMPBELL, C. ; FRASER, M. – Analysis of the dermatophyte species isolated in the British Isles between 1980 and 2005 and review of worldwide dermatophyte trends over the last three decades. **Medical Mycology**. 45 : 2 (March 2007) 131-141.
- BORREGO, C. ; CARVALHO, A. ; MIRANDA, A. I. – Investigação em ambiente e saúde : desafios e estratégias. Aveiro : Universidade de Aveiro, 2009.
- BOUGUERRA, R. ; ESSAÏS, O. ; SEBAÏ, N. – Prevalence and clinical aspects of superficial mycosis in hospitalized diabetic patients in Tunisia. **Médecine et maladies infectieuses**. 34 : 5 (May 2004) 201-205.

BRAHAM, C. ; EZZINE-SEBAI, N. ; ARRESE, J. E. – The connection between sports and spores : the foot, its mycoses and onychomycoses. **Revue Médicale de Liège**. 56 : 11 (Novembre 2001) 773-776.

BRAMONO, K. – The Asian Achilles survey. In 6th ASIAN DERMATOLOGICAL CONGRESS, Bangkok, November 2001.

BRANDÃO, J. ; SILVA, C. ; ALVES, C. – Qualidade microbiológica das areias das praias : relatório 2002. Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2002.

BRANDÃO, J. ; SILVA, C. ; ALVES, C. – Monitorização da qualidade das areias das zonas balneares : relatório 2008. [Em linha]. Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2008. Disponível em http://www.abae.pt/programa/BA/projectos/areias/2008/docs/relatorio_areias_nov2008.pdf.

BRANDI, G. ; SISTI, M. ; PAPARINI, A. – Swimming pools and fungi : an environmental epidemiology survey in Italian indoor swimming facilities. **International Journal of Environmental Health Research**. 17 : 3 (June 2007) 197-206.

BRENIER-PINCHART, M. P. ; LEBEAU, B. ; MALLARET, M. R. – Mobile air-decontamination unit and filamentous fungal load in the hematology ward : how efficient at the low-activity mode? **American Journal of Infection Control**. 37 : 8 (October 2009) 680-682.

BRENIER-PINCHART, M. P. ; LEBEAU, B. ; QUESADA, J. L. – Influence of internal and outdoor factors on filamentous fungal flora in haematology wards. **American Journal of Infection Control**. 37 : 8 (October 2009) 631-637.

BRILHANTE, R. S. ; CORDEIRO, R. A. ; MEDRANO, D. J. – Onychomycosis in Ceará (Northeast Brazil) : epidemiological and laboratory aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 100 : 2 (Abril 2005) 131-135.

BRITISH STANDARDS (BS) – BS EN 8800 : 1996 : guide to occupational health and safety management systems. London : BS, 1996.

BRITISH STANDARDS (BS) – BS EN 13098 : 2001 : workplace atmospheres, guidelines for measurement of airborne microorganisms and endotoxin. London : BS, 2001.

BROCARD-LEMORT, C. – Normes et recommandations en hygiène environnementale hospitalière. **Annales de Biologie Clinique**. 58 : 4 (2000) 431-437.

BROCKS, K. M. ; JOHANSEN, U. B. ; JORGENSEN, H. O. – Tinea pedis and onychomycosis in Danish soldiers before and after service in ex-Yugoslavia. **Mycoses**. 42 : 7-8 (1999) 475-478.

BRUNEKREEF, B. – Damp housing and adult respiratory symptoms. **Allergy**. 47 : 5 (October 1992) 498-503.

BUENO, D. J. ; SILVA, J. O. ; OLIVER G. – Hongos ambientales en una biblioteca : un año de estudio. **Anales de Documentación**. 6 (2003) 27-34.

BURGE, H. A. – Bioaerosols : prevalence and health effects in the indoor environment. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 86 : 5 (November 1990) 687-701.

BURGE, H. A. ; PIERSON, D. L. ; GROVES, T. O. – Dynamics of airborne fungal populations in a large office buildings. **Current Microbiology**. 40 : 1 (January 2000) 10-16.

BURKHART, C. G. – Skin disorders of the foot in active patients. **Physical Sports Medicine**. 27 : 2 (1999) 88-101.

BURR, M. L. ; MULLINS, J. ; MERRETT, T. G. – Indoor moulds and asthma. **Journal of the Royal Society of Health**. 108 : 3 (June 1988) 99-101.

BURRELL, R. – Microbiological agents as health risks in indoor air. **Environmental Health Perspectives**. 95 (November 1991) 29-34.

BURSYKOWSKI, T. ; MOLENBERGHS, G. ; ABECK, D. – High prevalence of foot diseases in Europe : results of the Achilles Project. **Mycoses**. 46 : 11-12 (December 2003) 496-505.

BUSH, R. K. ; PORTNOY, J. M. – The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 107 : 3 Suppl (March 2001) S430-S440.

BUTTNER, M. P. ; STETZENBACH, L. D. – Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects of human activity on air sampling. **Applied and Environmental Microbiology**. 59 : 1 (1993) 219-226.

CAMPBELL, C. K. ; JOHNSON, E. M. ; PHILPOT, C. M. – Identification of pathogenic fungi. London : Public Health Laboratory Service, 1996.

CANO, M. ; ALMEIDA, G. – Seasonal fluctuations of outdoor airborne fungi. In INDOOR AIR 2008, the 11th international conference on indoor air quality and climate, Copenhagen, Denmark, 17th-22th August: 523S.

CAPUTO, R. ; DE BOULLE, K. ; DEL ROSSO, J. – Prevalence of superficial fungal infections among sports-active individuals: results from the Achilles survey, a review of the literature. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. 15 : 4 (July 2001) 312-316.

CASTRO LÓPEZ, N. ; CASAS, C. ; SOPO, L. – Fusarium species detected in onychomycosis in Colombia. **Mycoses**. 52 (September 2008) 350-356.

CESTARI, T. F. ; ABDALA, C. ; ASSIS, T. L. – Fisiopatogenia das dermatofitoses. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 65 : 6 (Novembro-Dezembro 1990) 310-316.

CHABASSE, D. ; PIHET, M. – Les dermatophytes : les difficultés du diagnostic mycologique. **Revue Francophone des Laboratoires**. 2008 : 406 (Novembre 2008) 29-38.

CHANG, C. W. ; CHUNG, H. ; HUANG, C. F. – Exposure to workers to airborne microorganisms in open-air swine houses. **Applied and Environmental Microbiology**. 67 : 1 (January 2001) 155-161.

CHANG, J. C. ; FOARDE, K. K. ; VAN OSDELL, D. W. – Growth evaluation of fungi (*Penicillium* and *Aspergillus* spp.) on ceiling tiles. **Atmospheric Environment**. 29 : 17 (September 1995) 2331-2337.

CHAO, H. J. ; SCHWARTZ, J. ; MILTON, D.K. – Populations and determinants of airborne fungi in large office buildings. **Environmental Health Perspectives**. 110 : 8 (August 2002) 777-782.

CHENG, S. ; CHONG, L. – A prospective epidemiological study on *Tinea pedis* and onychomycosis in Hong Kong. **Chinese Medical Journal**. 115 : 6 (June 2002) 860-865.

CHERMETTE, R. ; FERREIRO, L. ; GUILLOT, J. – Dermatophytoses in animals. **Mycopathologia**. 166 : 5-6 (November 2008) 385-405.

CHEW, G. L. ; DOUWES, J. ; DOEKES, G. – Fungal extracellular polysaccharides, beta (1-3)-glucans and culturable fungi in repeated sampling of house dust. **Indoor Air**. 11 : 3 (September 2001) 171-178.

CHEW, G. L. ; ROGERS, C. ; BURGE, H. A. – Dustborne and airborne fungal propagules represent a different spectrum of fungi with differing relations to home characteristics. **Allergy**. 58 : 1 (January 2003) 13-20.

CHIEIRA, C. ; LOUREIRO, A. C. ; PAIVA, J. – Fungos e alergia respiratória. **Via Pneumológica**. 2 (1990) 103-110.

CODINA, R. ; FOX, R. W. ; LOCKEY, R. F. – Typical levels of airborne fungal spores in houses without obvious moisture problems during a rainy season in Florida, USA. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**. 18 : 3 (2008) 156-162.

ÇOLAKOĞLU, G. – The chemical and physical environment for fungal growth. **Fak Matbaa Birimi, Istanbul**. (2001) 149-166.

ÇOLAKOĞLU, G. – Indoor and outdoor mycoflora in the different districts of the city of Istanbul (Turkey). **Indoor and Built Environment**. 13 : 2 (2004) 91-100.

CONSELHO NACIONAL DA QUALIDADE (CNQ) – Directiva CNQ 23/93 : a qualidade das piscinas de uso público. Lisboa : CNQ, 1993.

COOLEY, J. D. ; WONG, W. C. ; JUMPER, C. A. – Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. **Occupational and Environmental Medicine**. 55 : 9 (September 1998) 579-584.

CORDEN, J. M. ; MILLINGTON, W. M. – The long-term trends and seasonal variation of the aeroallergen *Alternaria* in Derby, UK. **Aerobiologia**. 17 : 2 (June 2001) 127-136.

CORDONNIER, V. ; PARENT, G. ; DE BEER P. – Enquête sur les champignons des piscines dans la région du Nord (Lille). **Bulletin de la Société Française de Dermatologie et de Syphiligraphie**. 77 (1970) 170-175.

CORNET, M. ; LEVY, V. ; FLEURY, L. – Efficacy of prevention by high-efficiency particulate air filtration or laminar airflow against *Aspergillus* airborne contamination during hospital renovation. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. 20 : 7 (July 1999) 508-513.

COSTA, M. ; PASSOS, X. S. ; SOUSA, L. K. – Epidemiologia e etiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 35 : 1 (Janeiro-Fevereiro 2002) 19-22.

CRAWFORD, J. ; ROSEBAUM, P. ; ANAGNOST S. – Home conditions and indoor airborne fungal levels in a cohort of infants at risk for asthma. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 694.

CROCE, J. ; SILVA, E. G. ; FURTADO, E. L. – Estudo dos fungos anemófilos da cidade de Botucatu e sua correlação com sensibilização em pacientes com doenças alérgicas respiratórias. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**. 26 : 3 (Maio-Junho 2003) 95-109.

CURTIS, L. ; ROSS, M. ; PERSKY, V. – Bioaerosol concentrations in the quad cities 1 year after the 1993 Mississippi river floods. **Indoor and Built Environment**. 9 : 1 (2000) 35-43.

DAISEY, J. M. ; ANGELL, W. J. ; APTE, M. G. – Indoor air quality, ventilation and health symptoms in schools : an analysis of existing information. **Indoor Air**. 13 : 1 (March 2003) 53-64.

DAVES, R. R. – A study of air-borne *Cladosporium*. **Transactions of the British Mycological Society**. 40 (1957) 404-414.

DAVIES, R. R. ; GANDERTON, M. A. ; SAVAGE, M. A. – Human nail dust and precipitating antibodies to *Tricophyton rubrum* in Chiropodists. **Clinical Allergy**. 13 : 4 (July 1983) 309-315.

DE ANA, S. G. ; TORRES-RODRÍGUEZ, J. M. ; RAMÍREZ, E. A. – Seasonal distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**. 16 : 6 (2006) 357-363.

DEARBORN, D. G. ; YIKE, I. ; SORENSON, W. G. – Overview of investigations into pulmonary hemorrhage among infants in Cleveland, Ohio. **Environmental Health Perspectives**. 107 : Suppl 3 (June 1999) 495-499.

DECRETO-LEI nº 243/86. D. R. Série A. 190 (86-08-20) 2099-2106.

DECRETO-LEI nº 79/06. D.R. Série A. 67 (06-04-04) 2416-2468.

DECRETO-REGULAMENTAR nº 76/07. D.R. Série A. 136 (07-07-17) 4499-4543.

DEKOSTER, J. A. ; THORNE, P. S. – Bioaerosol concentrations in noncompliant, compliant, and intervention homes in the midwest. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 56 (1995) 573-580.

DE HOOG, G. S. ; GUARRO, J. ; GENÉ, G. – Atlas of clinical fungi. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.

DE LA MAZA, L. M. ; PEZZLO, M. T. ; BARON, E. J. – Atlas de diagnóstico em microbiologia. Porto Alegre : Artmed, 1999.

DEL PALACIO, A. ; PAZOS, C. ; CUÉTARAS, S. – Onicomycosis por hongos filamentosos no dermatófitos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. 19 : 9 (Novembro 2001) 439-442.

DETANDT, M. ; NOLARD, N. – Fungal contamination of the floors of swimming pools, particularly subtropical swimming paradises. **Mycoses**. 38 : 11-12 (November-December 1995) 509-513.

DHARMAGE, S. ; BAILEY, M. ; RAVEN, J. – A reliable and valid home visit report for studies of asthma in young adults. **Indoor Air**. 9 : 3 (1999) 188-192.

DHILLON, M. – Current status of mold immunotherapy. **Annals of Allergy**. 66 : 5 (May 1991) 385-392.

DÍAZ, J. F. ; GUILLEN, J.R. ; CARRERO, J. A. – Prevalência de doenças infecciosas no esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. 72 (2000) 343-348.

DILL, I. ; NIGGEMANN, B. – Domestic fungal viable propagules and sensitization in children with IgE mediated allergic diseases. **Pediatric Allergy and Immunology**. 7 : 3 (August 1996) 151-155.

DILLON, H. K. ; MILLER, J. D. ; SORENSON, W. G. – Review of methods applicable to the assessment of mold exposure to children. **Environmental Health Perspectives**. 107 : Suppl 3 (June 1999) 473-480.

DIXIT, A. ; LEWIS, W. ; BATY, J. – Deuteromycete aerobiology and skin-reactivity patterns : a two year, concurrent study in Corpus Christi, Texas, USA. **Grana**. 39 (2000) 209-218.

DJERIDANE, A. ; DJERIDANE, Y. ; AMMAR-KHODJA, A. – Epidemiological and aetiological study on Tinea pedis and onychomycosis in Algeria. **Mycoses**. 49 : 3 (2006) 190-196.

DOUWES, J. ; THORNE, P. ; PEARCE, N. – Bioaerosol health effects and exposure assessment : progress and prospects. **Annals of Occupational Hygiene**. 47 : 3 (April 2003) 187-200.

DRAKE, L. A. ; PATRICK, D. L. ; FLECKMAN, P. – The impact of onychomycosis on quality of life : development of an international onychomycosis-specific questionnaire to measure patient quality. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 41 : 2 Pt 1 (August 1999) 189-196.

DROUHET, E. ; MARCEL, M. ; LABONDE, J. – Flore dermatophytique des piscines. **Bulletin de la Société Française de Dermatologie et de Syphiligraphie**. 74 (1967) 719-723.

DUARTE, M. ; MACEDO, C. ; ESTRADA, I. – Panorama epidemiológico das dermatofitoses no distrito de Braga : revisão de 15 anos (1983 – 1998). **Trabalhos da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e de Venereologia**. 58 (2000) 55-61.

DUCHAIINE, C. ; MÉRIAUX, A. – The importance of combining air sampling and surface analysis when studying problematic houses for mold biodiversity determination. **Aerobiologia**. 17 : 2 (June 2001) 121-125.

DUHARD, E. – Ongles normal et ongles mycosiques. **Annales de Dermatologie et de Vénéréologie**. 130 : 12 (2003) 1231-1236.

DUTKIEWICZ, J. ; KRYSINSKA-TRACZYK, E. ; PRAZMO, Z. – Exposure to airborne microorganisms in Polish sawmills. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 8 : 1 (2001) 71-80.

EKHAISE, F. O. ; IGHOSEWE, O. U. ; AJAKPOVI, O. D. – Hospital indoor airborne microflora in private and government owned hospitals in Benin city, Nigeria. **World Journal of Medical Sciences**. 3 : 1 (January-June 2008) 19-23.

ELEWSKI, B. E. – Onychomycosis : pathogenesis, diagnosis and management. **Clinical Microbiology Reviews**. 11 : 3 (July 1998) 415-429.

ELEWSKI, B. E. – Onychomycosis : treatment, quality of life, and economic issues. **American Journal of Clinical Dermatology**. 1 : 1 (January-February 2000) 19-26.

ELEWSKI, B. E. ; CHARIF, M. A. – Prevalence of onychomycosis in patients attending a dermatology clinic in northeastern Ohio for other conditions. **Archives of Dermatology**. 133 : 9 (September 1997) 1172-1173.

EL FEKIH, N. ; HICHERI, J. ; KHELIFI, I. – Evaluation de la fréquence des mycoses du pied chez le diabétique. **Annales de Dermatologie et de Vénéréologie**. 131 : Suppl 1 (2004) 1S273-1S281.

ELLABIB, M. S. ; AGAJ, M. ; KHALIFA, Z. – Yeasts of the genus *Candida* are the dominant cause of onychomycosis in Libyan women but not men: results of a 2-year surveillance study. **British Journal of Dermatology**. 146 : 6 (June 2002) 1038-1041.

ELLIS, D. H. ; MARRIOTT, D. ; HAJJEH, R.E. A. – Epidemiology: surveillance of fungal infections. **Medical Mycology**. 38 : Suppl 1 (2000) 173-182.

ELLIS, D. H. ; WATSON, A. B. ; MARLEY, J. E. – Non-dermatophytes in onychomycosis of the toenails. **British Journal of Dermatology**. 136 : 4 (April 1997b) 490-493.

ELLIS, D. H. ; WATSON, A. B. ; MARLEY, J. E. – Significance of non-dermatophyte moulds and yeasts in onychomycosis. **Dermatology**. 194 : Suppl 1 (1997a) 40-42.

ELVIRA RENDUELES, M. L. – Caracterización aeropalinológica del bioaerosol atmosférico de la ciudad de Cartagena. Cartagena : Universidade Politécnica de Cartagena, 2001. Tese de doutoramento.

EMMONS, C. W. ; BINFORD, C. H. ; UTZ, J. P. – Culture media. In EMMONS, C. W. ; BINFORD, C. H. ; UTZ, J. P. – *Medical mycology*. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 1970. 474-493.

ENGLISH, M. P. – Invasion of the skin by filamentous non-dermatophyte fungi. **British Journal of Dermatology**. 80 : 5 (May 1968) 282-286.

ENGLISH, M. P. ; GIBSON, M. D. – Studies in the epidemiology of *tinea pedis*: I. *Tinea pedis* in school children. **British Medical Journal**. 1 : 5135 (June 1959) 1442-1446.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) – Mold remediation in schools and public buildings. Washington, DC : EPA, 2001.

ERBAGCI, Z. ; TUNCEL, A. ; ZER, Y. – A prospective epidemiologic survey on the prevalence of onychomycosis and dermatophytosis in male boarding school residents. **Mycopathologia**. 159 : 3 (April 2005) 347-352.

ESCALANTE, M. T. ; SÁNCHEZ-BORGES, M. ; CAPRILES-HULETT, A. – Tricophyton-specific IgE in patients with dermatophytosis is not associated with aeroallergen sensitivity. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 105 : 3 (March 2000) 547-551.

ESCOBAR, M. L. ; CARMONA-FONSECA, J. – Onicomycosis por hongos ambientales no dermatofíticos. **Revista Iberoamericana de Micología**. 20 (2003) 6-10.

ESTEVEZ, J. A. ; CABRITA, J. D. ; NOBRE, G. N. – *Micologia médica*. 2^a ed. Lisboa : Fundação Calouste Gulbenkian, 1990.

EUDEY, L. ; SU, H. J. ; BURGE, H. A. – Biostatistics and bioaerosols. In BURGE, H. A., ed. lit. – Bioaerosols. Boca Raton, FL : Lewis Publishers 1995. 269-307.

EUROPEAN AGENCY FOR SAFETY AND HEALTH AT WORK – Enlarging the power of occupational safety and health in the European Union. [Em linha] Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities, 2005. [Consult. 29 Jul. 2008]. Disponível em http://osha.europa.eu/en/publications/annual_report/2004full

EUROPEAN AGENCY FOR SAFETY AND HEALTH AT WORK – EU-OSHA Annual report 2007 : bringing safety and health closer to European workers. [Em linha] Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities, 2008. [Consult. 29 Jul. 2008]. Disponível em http://osha.europa.eu/en/publications/annual_report/2007full

FAERGEMANN, J. ; BARAN, R. – Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. **British Journal of Dermatology**. 149 : Suppl 65 (September 2003) 1-4.

FANG, Z. ; OUYANG, Z. ; HU, L. – Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. **Science of the Total Environment**. 350 : 1-3 (November 2005) 47-58.

FARIA, M. ; UVA, A.S. – Diagnóstico e prevenção das doenças profissionais : algumas reflexões. **Jornal da Sociedade das Ciências Médicas de Lisboa**. 9 : 10 (Novembro-Dezembro 1988) 360-371.

FAURE, O. ; FRICKER-HIDALGO, H. ; LEBEAU, B. – Eight-year surveillance of environmental fungal contamination in hospital operating rooms and haematological units. **Journal of Hospital Infection**. 50 : 2 (February 2002) 155-160.

FERNANDES, F. C. – Poeiras em aviários. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho, Belo Horizonte**. 2 : 4 (Outubro-Dezembro 2004) 253-262.

FERNÁNDEZ-PINTO, V. E. ; VAAMONDE, G. – Hongos productores de micotoxinas en alimentos. **Revista Argentina de Microbiología**. 28 : 3 (Julio-Setembro 1996) 147-162.

FIGUEIREDO, V. T. ; SANTOS, D. A. ; RESENDE, M. A. – Identification and in vitro antifungal susceptibility testing of 200 clinical isolates of *Candida* spp. responsible for fingernail infections. **Mycopathologia**. 164 : 1 (July 2007) 27-33.

FISCHER, F. ; COOK, N. B. – Fundamentals of diagnostic mycology. Philadelphia : Saunders, 1998.

FISCHER, G. ; DOTT, W. – Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. **Archives of Microbiology**. 179 : 2 (January-February 2003) 75-82.

FLANNIGAN, B. ; MILLER, J. D. – Health implications of fungi in indoor environments : an overview. In SAMSON, R. A. ; FLANNIGAN, B. ; FLANNIGAN, M. E., ed. lit. – Health implications of fungi in indoor environments. Amsterdam : Elsevier; 1994. 1-28.

FLEISHER, M. ; BOBER-GHEEK, B. ; BORTKIEWICZ, O. – Microbiological control of airborne contamination in hospitals. **Indoor and Built Environment**. 15 : 1 (2006) 53-56.

FOARDE, K. K. ; VAN OSDELL, D. W. ; MENETREZ, M. Y. – Investigating the influence of relative humidity, air velocity, and amplification on the emission rates of fungal spores. **Indoor Air**. 2 (1999) 507-512.

FORTIN, M. F. – O processo de investigação : da concepção à realização. 3ª ed. Loures : Lusociência, 2003.

FOSS, N. T. ; POLON, D. P. ; TAKADA, M. H. – Dermatoses em pacientes com diabetes mellitus. **Revista de Saúde Pública**. 39 : 4 (2005) 677-682.

FOSTER, K. W. ; GHANNOUM, M. A. ; ELEWSKI, B. E. – Epidemiologic surveillance of cutaneous fungal infection in the United States from 1999 to 2002. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 50 : 5 (2004) 748-752.

FOULET, F. ; CREMER, G. ; BOURDON-LANOY, F. – Les attentes plantaires et dermatophytes sont-elles sous estimées? Étude rétrospective 2002-2003. **Annales de Dermatologie et de Vénéréologie**. 131 (2004) 1S171-1S172.

FREITAS, G. – Micologia geral, micoses cutâneas e mucocutâneas, micoses subcutâneas e sistêmicas. In FERREIRA, V. ; SOUSA, J., ed. lit. – Microbiologia. Lisboa : Lidel, 2000. 291-343.

FRIEDLANDER, S. F. ; PICKERING, B. ; CUNNINGHAM, B. B. – Use of cotton swab method in diagnosing Tinea capitis. **Pediatrics**. 104 : 2 Pt 1 (August 1999) 274-279.

GALLO, F. – Biological factors in deterioration of paper. Rome : ICCROM, 1985.

GALLUP, J. ; KOZAK, P. ; CUMMINS, L. – Indoors mould spore exposure : **characteristics** characteristics of 127 homes in Southern California with endogenous mould problems. **Experientia. Supplementum**. 51 (1987) 139-147.

GANGNEUX, J. P. ; ROBERT-GANGNEAUX, F. ; GICQUEL, G. – Bacterial and fungal counts in hospital air : comparative yields for 4 sieve impactor air samplers with 2 culture media. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. 27 : 12 (December 2006) 1405-1408.

GARCIA JR, J. R. ; CURI, T. C. ; CURI, R. – Consequências do exercício para o metabolismo da glutamina e função imune. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. 6 : 3 (2000) 99-107.

GARCÍA-HUMBRÍA, L. ; RICHARD-YEGRES, N. ; PÉREZ-BLANCO, M. – Frecuencia de micosis superficiales : estudio comparativo en pacientes diabéticos tipo 2 y en individuos no diabéticos. **Investigación Clínica**. 46 : 1 (Marzo 2005) 65-74.

GARG, A. ; VENKATESH, V. ; SINGH, M. – Onychomycosis in central India : a clinicoetiologic correlation. **International Society of Dermatology**. 43 : 7 (2004) 498-502.

GARG, J. ; TILAK, R. ; GARG, A. – Rapid detection of dermatophytes from skin and hair. **BMC Research Notes**. 2 (April 18th 2009) 60.

GARRETT, M. H. ; RAYMENT, P. R. ; HOOPER, M. A. – Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. **Clinical & Experimental Allergy**. 28 : 4 (April 1998) 459-467.

GAUTRET, P. ; RODIER, M. H. ; KAUFFMANN-LACROIX, C. – Case report and review : onychomycosis due to *Candida parapsilosis*. **Mycoses**. 43 : 11-12 (2000) 433-435.

GELINCIK, A. A. ; BÜYÜKÖZTÜRK, S. ; GÜL, H. – The effects of indoor fungi on the symptoms of patients with allergic rhinitis in Istanbul. **Indoor and Built Environment**. 14 : 5 (2005) 427-432.

GENT, J. F. ; REN, P. ; BELANGER, K. – Levels of household mold associated with respiratory symptoms in the first year of life in a cohort at risk for asthma. **Environmental Health Perspectives**. 110 : 12 (December 2002) A781-A786.

GENTLES, J. C. – The isolation of dermatophytes from the floors of communal bathing places. **Journal of Clinical Pathology**. 9 : 2 (November 1956) 374-377.

GENTLES, J. C. ; HOLMES, J. G. – Foot ringworm in coal-miners. **British Journal of Industrial Medicine**. 14 : 1 (January 1957) 22-29.

GHANNOUM, M. A. ; HAJJEH, M. D. ; SCHER, R. – A large-scale North American study of fungal isolates from nails : the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 43 : 4 (October 2000) 641-648.

GIANNI, C. ; CERRI, A. ; CROSTI, C. – Non-dermatophytic onychomycosis. An underestimated entity? A study of 51 cases. **Mycoses**. 43 : 1-2 (2000) 29-33.

GIP, I. ; PALDROK, H. – Isolation of dermatophytes from beach sand on the west coast of Sweden. **Acta Dermato-Venereologica**. 46 (1966) 78-81.

GODISH, T. – Indoor air pollution control. 3rd ed. Lewis Publishers, 1991.

GODOY, P. ; NUNES, F. ; SILVA, V. – Onychomycosis caused by *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in São Paulo, Brazil. **Mycopathologia**. 157 : 3 (Abril 2004) 287-290.

GOMES, A. C. ; ERICHESEN, O. A. – Preparação de futebolistas na infância e adolescência. In BARROS, T. L. ; GUERRA, I., ed. lit. – *Ciência do Futebol*. Barueri : Manole, 2004. 238-275.

GOMES, J. F. – Contaminação do ar interior por bioaerossóis. **Revista Portuguesa de Pneumologia**. VIII : 6 (2002) 689-694.

GONZALEZ, R. ; FERRER, S. ; BUESA, J. – Transformation of the dermatophyte *Tricophyton mentagrophytes* to hygromycin B resistance. **Infection and Immunity**. 57 : 9 (September 1999) 2923-2925.

GÖPFERT, U. – Zur Mykosehäufigkeit in einem Schlacht- und Verarbeitungsbetrieb. Berlin : Akademie für Ärztliche Fortbildung der DDR, 1988. 101 f. Tese de doutoramento.

GÓRNY, R. L. – Filamentous microorganisms and their fragments in indoor air : a review. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 11 : 2 (2004) 185-197.

GÓRNY, R. L. ; DUTKIEWICZ, J. – Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 9 : 1 (2002) 17-23.

GÓRNY, R. L. ; REPONEN, T. ; GRINSHUPUN, S. A. – Source strength of fungal spore aerosolization from moldy building material. **Atmospheric Environment**. 35 : 28 (October 2001) 4853-4862.

GÓRNY, R. L. ; REPONEN, T. ; WILLEKE, K. – Fungal fragments as indoor air biocontaminants. **Applied and Environmental Microbiology**. 68 : 7 (July 2002) 3522-3531.

GOTZ, H. ; HANTSCHKE, D. – Einblicke in die epidemiologie der dermatomykosen im Kohlebergbau. **Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete**. 16 (1965) 543-548.

GOYER, N. ; LAVOIE, J. ; LAZURE, L. – Bioaerosols in the workplace : evaluation, control and prevention guide. [Em linha] Québec : Institut de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail du Québec, 2001. Disponível em <http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/T-24.pdf>

GRANT, C. ; HUNTER, C. A. ; FLANNIGAN, B. – Water activity requirements of moulds isolated from domestic dwellings. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 25 (1989) 259-284.

GRAVESEN, S. – Fungi as a cause of allergic disease. **Allergy**. 34 : 3 (June 1979) 135-154.

GRAVESEN, S. ; NIELSEN, P. A. ; IVERSEN, R. – Microfungal contamination of damp buildings : examples of risk constructions and risk materials. **Environmental Health Perspectives**. 107 : Suppl 3 (June 1999) 505-508.

GREEN, B. J. ; TOVEY, E. R. ; SERCOMBE, J. K. – Airborne fungal fragments and allergenicity. **Medical Mycology**. 44 : Suppl 1 (September 2006) S245-S255.

GREENE, V. W. ; VESLEY, D. ; BOND, R. G. – Microbial contamination of hospital air. I. Quantitative studies. **Applied Microbiology**. 10 (1962a) 561-567.

GREENE, V. W. ; VESLEY, D. ; BOND, R. – Microbial contamination of hospital air. II. Qualitative studies. **Applied Microbiology**. 10 (1962b) 567-574.

GREER, D. L. – An overview of common dermatophytes. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 31 : 3 Pt 2 (September 1994) S112-S116.

GREER, D. L. – Evolving role of nondermatophytes in onychomycosis. **International Journal of Dermatology**. 34 : 8 (August 1995) 521-524.

GRILLOT, R. – Les mycoses humaines : démarche diagnostique. Paris : Elsevier, 1996.

GUARRO, J. ; GENÉ, J. ; STCHIGEL, A. M. – Developments in fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**. 12 : 3 (July 1999) 454-500.

GUDNADÓTTIR, G. ; HILMARSDÓTTIR, I. ; SIGURGEIRSSON, B. – Onychomycosis in Iceland swimmers. **Acta Dermato-Venereologica**. 79 : 5 (September 1999) 376-377.

GUGNANI, H. C. – Nondermatophytic filamentous keratinophilic fungi and their role in human infection. In KUSHWAHA, R. K. ; GUARRO, J., ed. lit. – Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. Bilbao : Revista Iberoamericana de Micología, 2002. 109-114.

GÜL, H. ; ISSEVER, H. ; AYRAZ, O. – Occupational and environmental risk factors for the sick building syndrome in modern offices in Istanbul : a cross sectional study. **Indoor and Built Environment**. 16 : 1 (2007) 47-54.

GUPTA, A. K. ; COOPER, E. A. ; MACDONALD, P. – Utility of inoculum counting (Walshe and English criteria) in clinical diagnosis of onychomycosis caused by nondermatophytic filamentous fungi. **Journal of Clinical Microbiology**. 39 : 6 (June 2001) 2115-2121.

GUPTA, A. K. ; JAIN, H. C. ; LYNDE, C. W. – Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices : a multicenter Canadian survey of 15,000 patients. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 43 : 2 (August 2000) 24-28.

GUPTA, A. K. ; JAIN, H. C. ; LYNDE, C. W. – Prevalence and epidemiology of unsuspected Onychomycosis in patients visiting dermatologists' offices in Ontario, Canada : a Multicenter Survey. **British Journal of Dermatology**. 36 : 10 (October 1997) 783-787.

GUPTA, A. K. ; KONNIKOV, N. ; MACDONALD, P. – Prevalence and epidemiology of toenail onychomycosis in diabetic subjects : a multicentre survey. **British Journal of Dermatology**. 139 : 4 (October 1998) 665-671.

GUPTA, A. K. ; LYNDE, C. W. ; JAIN, H. C. – A higher prevalence of onychomycosis in psoriatics compared with non-psoriatics : a multi-centre study. **British Journal of Dermatology**. 136 : 5 (1997) 786-789.

GUPTA, A. K. ; RYDER, J. E. ; SUMMERBELL, R. C. – The diagnosis of nondermatophyte mold onychomycosis. **International Journal of Dermatology**. 42 : 4 (April 2003) 272-273.

GUPTA, A.K. ; SIBBALD, R. G. ; LYNDE, C. W. – Onychomycosis in children : prevalence and treatment strategies. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 36 : 3 (1997) 395-402.

GUPTA, A.K. ; SUMMERBELL, R. C. – Increased incidence of *Trichophyton tonsurans* Tinea capitis in Ontario, Canada between 1985 and 1996. **Medical Mycology**. 36 : 2 (April 1998) 55-60.

HABIF, T. – Dermatologia clínica : guia colorido para diagnóstico e tratamento. 4^a ed. Porto Alegre : Artmed, 2005.

HALWAGY, M. H. – Seasonal air spore at three cites in Kuwait 1977-1982. **Mycological Research**. 93 (1989) 208-213.

HAMNERIUS, N. ; BERGLUND, J. ; FAERGEMANN, J. – Clinical and laboratory investigations : pedal dermatophyte infection in psoriasis. **British Journal of Dermatology**. 150 (2004) 1125-1128.

HAN, M. H. ; CHOI, J. H. ; SUNG, K. J. – Onychomycosis and *Trichosporon beigelli* in Korea. **International Journal of Dermatology**. 39 : 4 (2000) 266-269.

HANDOG, E. B. ; DAYRIT, J. F. – Mycology in the Philippines, revisited. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**. 46 : 2 (2005) 71-76.

HANEKE, E. – Epidemiology and pathology of onychomycoses. In NOLTING, S. ; KORLING, H. C., ed. lit. – Onychomycoses. Berlin : Springer-Verlag, 1989. 1-8.

HANEKE, E. – Fungal infections of the nail. **Seminars in Dermatology**. 10 : 1 (March 1991) 41-53.

HARGREAVES, M. ; PARAPPUKKARAN, S. ; MORAWSKA, L. – A pilot investigation into associations between indoor airborne fungal and non-biological particle concentrations in residential houses in Brisbane, Australia. **Science of the Total Environment**. 312 : 1-3 (2003) 89-101.

HASNAIN, S. M. – Influence of meteorological factors on the air spora. **Grana**. 32 : 3 (1993) 184-188.

HAVLICKOVA, B. ; CZAICA, V. A. ; FRIEDRICH, M. – Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses**. 51 : Suppl 4 (2008) 2-15.

HAYASHI, M. ; OSAWA, H. – A field study on mites and environmental factors in houses. In **HEALTHY BUILDINGS**, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 262.

HEAD, E. S. ; HENRY, J. C. ; MACDONALD, E. M. – The cotton swab technic for the culture of dermatophyte infections : its efficacy and merit. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 11 : 5 Pt 1 (November 1984) 797-801.

HEALTH CANADA – Indoor air quality in office buildings : a technical guide. [Em linha] Vancouver : Health Canada, 1993. Disponível em http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/air/office_building-immeubles_bureaux/93ehd-dhm166-eng.pdf.

HEIKKILÄ, H. ; STUBB, S. – The prevalence of onychomycosis in Finland. **British Journal of Dermatology**. 133 : 5 (November 1995) 699-703.

HINDY, K. T. ; AWAD, A. H. – An initial control of indoor air biocontamination. **Environmental Management and Health**. 11 : 2 (2000) 133-138.

HIRSCH, A. ; LIDWELL, O. M. ; WILLIAMS, R. – The bacterial flora of the air of occupied rooms. **The Journal of Hygiene**. 54 : 4 (December 1956) 512-523.

HODGSON, M. J. ; MOREY, P. ; LEUNG, W. Y. – Building-associated pulmonary disease from exposure to *Stachybotrys chartarum* and *Aspergillus versicolor*. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**. 40 : 3 (March 1998) 241-249.

HOET, P. – General principles. In **WORLD HEALTH ORGANIZATION – Biological monitoring of chemical exposure in the workplace**. Geneva : WHO, 1996. 1-19.

HOLMBERG, K. – Mould growth inside buildings. In BERGLUND, B. ; LINDVALL, T. ; SUNDELL, J. – **Indoor Air**. Vol. 3 : Sensory and hyperreactivity reactions to sick buildings. Stockholm : Swedish Council for Building Research, 1984. 253-256.

HOLMBERG, K. – Indoor mould exposure and health effects. In SEIFERT, B. ; ESDORN, H. ; FISCHER, M. – **Indoor Air' 87**. Vol. I : Volatile organic compounds, combustion gases, particles and fibers, microbiological agents. Berlin : Institute for Water, Soil and Air Hygiene, 1987. 637-642.

HOMNA, Y. ; HAYASHI, M. ; HASEGAWA, K. – Field measurement of airborne fungal spores of detached houses with insulated crawl space foundation in Japan. In **HEALTHY BUILDINGS**, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 237.

HORNER, W. E. – Assessment of the indoor environment : evaluation of mold growth indoors. **Immunology and Allergy Clinics of North America**. 23 : 3 (August 2003) 519-531.

HORNER, W. E. ; HELBLING, A. ; SALVAGGIO, J. E. – Fungal allergens. **Clinical Microbiology Reviews**. 8 : 2 (April 2005) 161-179.

HORNER, W. E. ; WORTHAN, A. G. ; MOREY, P. R. – Air- and dustborne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth. **Applied and Environmental Microbiology**. 70 : 11 (November 2004) 6394-6400.

HU, F. ; BARNES, C. S. ; KUSKO, G. – Comparison of indoor airborne spore collections in residential, commercial and school buildings. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 109 : 1 Suppl 1 (2002) S54.

HUGHES, W. T. – The athlete : an immunocompromised host. **Advances in Pediatric Infectious Diseases**. 13 (1997) 79-99.

HUNTER, C. A. ; GRANT, C. ; FLANNIGAN, B. – Mould in buildings : the air spora of domestic dwellings. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 24 : 2 (1988) 81-101.

HURST, C. J. ; KNUDSEN, G. R. ; MCINERMEY, M. J. – Manual of environmental microbiology. Washington, DC : ASM Press, 1997.

HUTTER, H. P. ; MOSHAMMER, H. ; KUNDI, M. – Moulds in housing: visual inspection and spore counts comparison: implications for future strategies in the public health setting. **Central European Journal of Public Health**. 10 : 3 (September 2002) 93-96.

HYVÄRINEN, A. ; KAARAKAINEN, P. ; MEKLIN, T. – Airborne microbial levels and associations with childhood asthma and moisture damage. In **HEALTHY BUILDINGS**, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 168.

HYVÄRINEN, A. ; VAHTERISTO, M. ; MEKLIN, T. – Temporal and spatial variation of fungal concentrations in indoor air. **Aerosol Science and Technology**. 35 : 2 (2001) 688-695.

IBÁÑEZ HENRÍQUEZ, V. ; ROJAS VILLEGAS, R. ; ROURE NOLLA, J. M. – Airborne fungi monitoring in Santiago, Chile. **Aerobiologia**. 17 : 2 (2001) 137-142.

IGLESIAS-HERNÁNDEZ, T. M. ; MARTÍNEZ-MACHIN, G. F. ; PERURENA-LANCHA, M. R. – Prevalence of *Tinea pedis* in top athletes from Cuba. **Mycoses**. 52 : Suppl 1 (2009) 119.

INSTITUTO DO DESPORTO DE PORTUGAL (IDP) – Listagem de estabelecimentos licenciados para a actividade desportiva. Lisboa : IDP, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE (INSA) – Procedimento de ensaio BAMI – PE 28_01. Lisboa : INSA, 2001.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE (INSA) – Procedimento de ensaio BAMI – PE 06_03. Lisboa : INSA, 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE (INSA) – Manual de colheitas do Centro de Bacteriologia e Micologia Professor Doutor Arnaldo Sampaio do INSA. Lisboa: INSA, 2007.

INSTITUTO PORTUGUÊS DA QUALIDADE – NP 689 : 2007 : atmosferas de locais de trabalho : guia para a apreciação da exposição por inalação a agentes químicos por comparação com valores limite e estratégica de medição. Caparica : Instituto Português da Qualidade, 2007.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO 18593 : 2004 : microbiology of food and animal feeding stuffs : horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs. Geneva : ISO, 2004.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO 7726 : 1998 : ergonomics of the thermal environment : instruments for measuring physical quantities. Geneva : ISO, 1998.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS) – Principles for the assessment of risks to human health from exposure to chemicals. Geneva : WHO, 1999.

IORIO, R. ; CAFARCHIA, C. ; CAPELLI, G. – Dermatophytoses in cats and humans in central Italy : epidemiological aspects. **Mycoses**. 50 : 6 (2007) 491-495.

JANG, K. A. ; CHI, D. H. ; CHOI, J. H. – Tinea pedis in Korean children. **International Journal of Dermatology**. 39 : 1 (January 2000) 25-27.

JARVIS, B. B. ; MILLER, J. D. – Mycotoxins as harmful indoor air contaminants. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 66 : 4 (January 2005) 367-372.

JAZRAWI, S. F. ; AL-SHAHWANI, M. P. – Concentration of viable microorganisms in indoor settled dust and its relation with meteorological parameters in Baghdad city. **Journal of Environmental Science and Health. Part A**. 18 : 1 (1983) 145-154.

JENSEN, J. M. ; PFEIFFER, S. ; AKAKI, T. – Barrier function, epidermal differentiation, and human beta-defensin 2 expression in tinea corporis. **The Journal of Investigative Dermatology**. 127 : 7 (July 2007) 1720-1727.

JENSEN, P. A. ; TODD, W. F. ; HART, M. E. – Evaluation and control of worker exposure to fungi in a beet sugar refinery. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 54 : 12 (December 1993) 742-748.

JERSEK, B. ; ZORMAN, T. – Estimation of bioaerosols in work environments. **Acta Agriculturae Slovenica**. 87 (2006) 263-274.

JO, W. K. ; KANG, J. H. – Exposure levels of airborne bacteria and fungi in Korean swine and poultry sheds. **Archives of Occupational & Environmental Health**. 60 : 3 (May-June 2005) 140-146.

JO, W. K. ; SEO, Y. J. – Indoor and outdoor bioaerosol levels at recreation facilities, elementary schools, and homes. **Chemosphere**. 61 : 11 (December 2005) 1570-1579.

JOHANNING, E. ; GAREIS, M. ; LANDSBERGIS, P. – Mycotoxin air sampling in indoor environments : comparison of risk assessment using trichothecene screening test and conventional fungal identification method. In **HEALTHY BUILDINGS**, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 536.

JONES, A. M. ; HARRISON, R. M. – The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations : a review. **Science of the Total Environment**. 326 : 1-3 (June 2004) 151-180.

KAKDE, U. B. ; KAKDE, H. U. ; SAOJI, A. A. – Seasonal variation of fungal propagules in a fruit market environment, Nagpur (India). **Aerobiologia**. 17 : 2 (June 2001) 177-182.

KAMIHAMA, T. ; KIMURA, T. ; HOSOKAWA, J. I. – Tinea pedis outbreak in swimming pools in Japan. **Public Health**. 111 : 4 (July 1997) 249-253.

KAUR, R. ; KASHYAP, B. ; BHALLA, P. – A five-year survey of onychomycosis in New Delhi, India : Epidemiological and laboratory aspects. **Indian Journal of Dermatology**. 52 : 1 (2007) 39-42.

KAUR, R. ; KASHYAP, B. ; BHALLA, P. – Onychomycosis : epidemiology, diagnosis and management. **Indian Journal of Medical Microbiology**. 26 : 2 (April-June 2008) 108-116.

KAZEMI, A. – Tinea unguium in the North-West of Iran (1996-2004). **Revista Iberoamericana de Micología**. 24 : 2 (2007) 113-117.

KEMNA, M. E. ; ELEWSKI, B. E. – A US epidemiological survey of superficial fungal diseases. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 35 : 4 (October 1996) 539-542.

KEMP, P. C. ; NEUMEISTER-KEMP, H. G. ; ESPOSITO, B. – Changes in airborne fungi from the outdoors to indoor air : large HVAC systems in nonproblem buildings in two different climates. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 64 : 2 (2003) 269-275.

KEMP, P. C. ; NEUMEISTER-KEMP, H. G. ; MURRAY, F. – Airborne fungi in non-problem buildings in a southern-hemisphere Mediterranean climate : preliminary study of natural and mechanical ventilation. **Indoor and Built Environment**. 11 : 1 (2002) 44-53.

KHAN, Z. U. ; KHAN, M. A. ; CHANDY, R. – Aspergillus and other moulds in the air of Kuwait. **Mycopathologia**. 146 : 1 (1999) 25-32.

KIBBLER, C. C. ; MACKENZIE, D. W. ; ODDS, F. C. – Principles and practice of clinical mycology. Chichester : John Wiley & Sons, 1996.

KILPELÄINEN, M. ; TERHO, E. O. ; HELENIUS, H. – Home dampness, current allergic diseases, and respiratory infections among young adults. **Thorax**. 56 : 6 (June 2001) 462-467.

KIM, K. Y. ; PARK, J. B. ; JANG, G. Y. – Assessment of bioaerosols in the public buildings of Korea. **Indoor and Built Environment**. 16 : 5 (2007) 465-471.

KLÁNOVÁ, K. – The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air : rooms with and without mould problems, rooms with and without health complaints. **Central European Journal of Public Health**. 8 : 1 (February 2000) 59-61.

KLÁNOVÁ, K. ; HOLLEROVÁ, J. – Hospital indoor environment: screening for micro-organisms and particulate matter. **Indoor and Built Environment**. 12 : 1-2 (2003) 61-67.

KOCH, A. ; HEILEMANN, K. J. ; BISCHOF, W. – Indoor viable mold spores : a comparison between two cities, Erfurt (estern Germany) and Hamburg (western Germany). **Allergy**. 55 : 2 (February 2000) 176-180.

KODAMA, A. M. ; MCGEE, R. I. – Airborne microbial contaminants in indoor environments. **Archives of Environmental Health**. 41 : 5 (September-October 1986) 306-311.

KOH, D. ; AW, T. C. – Surveillance in occupational health. **Occupational and Environmental medicine**. 60 : 9 (2003) 705-710.

KORDBACHEH, P. ; ZAINI, F. ; KAMALI, P. – Study on the sources of nosocomial fungal infections at intensive care unit and transplant wards at a teaching hospital in Tehran. **Iranian Journal of Public Health**. 34 : 2 (2005) 1-8.

KORSTANJE, M. J. ; STAATS, C. C. – Fungal infections in the Netherlands : prevailing fungi and pattern of infection. **Dermatology**. 190 : 1 (1995) 39-42.

KOSKINEN, O. M. ; HUSMAN, T. M. ; MEKLIN, T. M. – The relationship between moisture or mould observations in houses and the state of health of their occupants. **European Respiratory Journal**. 14 : 6 (1999) 1363-1367.

KOZAK, P. P. JR ; GALLUP, J. ; CUMMINS, L. H. – Currently available methods for home mold surveys. II. Examples of problem homes surveyed. **Annals of Allergy**. 45 : 3 (September 1980) 167-176.

KRIKSTAPONIS, A. – Diversity of fungal species in occupational and residential environments and their biological peculiarities (toxicity, pathogenicity, proteolytic, lipolytic, and cellulolytic activity). Vilnius : Institute of Botany, 2000. Tese de doutoramento.

KRYSINSKA-TRACZYK, E. ; DUTKIEWICZ, J. – *Aspergillus candidus* : a respiratory hazard associated with grain dust. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 7 : 2 (2000) 101-109.

KRYSINSKA-TRACZYK, E. ; SKORSKA, C. ; CHOLEWA, G. – Exposure to airborne microorganisms in furniture factories. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 9 : 1 (2002) 85-90.

LACAZ, C. S. ; PORTO, E. ; MARTINS, J. E. – Tratado de micologia médica Lacaz. 9ª ed. São Paulo : Sarvier, 2002.

LACROIX, C. ; BASPEYRAS, M. ; DE LA SALMONIÈRE, P. – Tinea pedis in European marathon runners. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. 16 : 2 (2002) 139-142.

LARONE, D. H. – Medically important fungi : a guide to identification. 4th ed. Washington, DC : ASM Press, 2002.

LAWTON, M. D. ; DALES, R. E. ; WHITE, J. – The influence of house characteristics in a Canadian community on microbiological contamination. **Indoor Air**. 8 : 1 (1998) 2-11.

LEBEAU, B. ; PINEL, C. ; GRILLOT, R. – Infections nosocomiales fongiques et parasitaires : intérêt et limite des méthodes de désinfection. **Pathologie-Biologie**. 46 : 5 (1998) 335-340.

LEE, J. H. ; JO, W. K. – Exposure to airborne fungi and bacteria while commuting in passenger cars and public buses. **Atmospheric Environment**. 39 : 38 (2005) 7342-7350.

LEONI, E. ; LEGNANI, P. ; GUBERTI, E. – Risk of infection associated with microbiological quality of public swimming pools in Bologna, Italy. **Public Health**. 113 : 5 (September 1999) 227-232.

LEVETIN, E. ; SHAUGHNESSY, R. ; FISCHER, E. – Indoor air quality in schools : exposure to fungal allergens. **Aerobiologia**. 11 : 1 (March 1995) 27-34.

LEVY, A. – Epidemiology of onychomycosis in special-risk populations. **Journal of the American Podiatric Medical Association**. 87 : 12 (1997) 546-550.

LI, D. W. ; KENDRICK, B. – A year-round outdoor aeromycological study in Waterloo, Ontario, Canada. **Grana**. 34 : 3 (June 1995) 199-207.

LI, D. W. ; YAND, C. S. – Fungal contamination as a major contributor to sick building syndrome. **Advances in Applied Microbiology**. 55 (2004) 31-112.

LIMA, N. ; VENÂNCIO, A. – Agentes biológicos (fungos) na atmosfera de trabalho. In SOUSA, J. P. ; FRANCO, M. H. ; RODRIGUES, M. A., ed. lit. – Riscos dos agentes biológicos. Lisboa : IDICT, 2001. 369-397.

LIOY, P. J. – Measurement methods for human exposure analysis. **Environmental Health Perspectives**. 103 : Suppl. 3 (April 1995) 35-44.

LOPES, V. ; VELHO, G. ; AMORIM, M. L. – Incidência de dermatófitos, durante três anos, num hospital do Porto (Portugal). **Revista Iberoamericana de Micología**. 19 (2002) 201-203.

LU, Z. ; LU, W. Z. ; ZHANG, J. L. – Microorganisms and particles in AHU systems : measurement and analysis. **Building and Environment**. 44 : 4 (2009) 694-698.

LUGAUSKAS, A. ; JASKELEVICIUS, B. – Micromycetes hazardous to human health in buildings of various age and use in Vilnius. **Indoor and Built Environment**. 16 : 4 (2007) 358-370.

LUGAUSKAS, A. ; KRIKSTAPONIS, A. – Microscopic fungi found in the libraries of Vilnius and factors affecting their development. **Indoor and Built Environment**. 13 : 3 (2004) 169-182.

LUGAUSKAS, A. ; KRIKSTAPONIS, A. ; SESKAUSKAS, V. – Species of conditionally pathogenic micromycetes in the air of dwellings and occupational premises. **Indoor and Built Environment**. 12 : 3 (2003) 167-177.

LUGAUSKAS, A. ; KRIKSTAPONIS, A. ; SVEISTYTE, L. – Airborne fungi in industrial environments : potential agents of respiratory diseases. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 11 : 1 (2004) 19-25.

LUNDER, M. ; LUNDER, M. – Is *Microsporum canis* infection about to become a serious dermatological problem? **Dermatology**. 184 : 2 (1992) 87-89.

MACHER, J., ed. lit. – Bioaerosols : assessment and control. Cincinnati, OH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1999.

MACURA, A. B. – Dermatophyte infections. **International Journal of Dermatology**. 32 : 5 (May 1993) 313-323.

MADHURI, J. – Onychomycosis : a significant medical problem. **Indian Journal of Dermatology Venerol Leprol.** 68 (2002) 326-327.

MAJUMDAR, M. R. ; BHATTACHARYYA, K. – Measurement of indoor fungal contaminants causing allergy among the workers of paper-related industries of West Bengal, India. **Indoor and Built Environment.** 13 : 3 (2004) 189-197.

MALE, O. – The significance of mycology in medicine. In HAWKSWORTH, D. L., ed. lit. – *Frontiers in mycology : honorary and general lectures from the Fourth International Mycological Congress, Regensburg, Germany, 1990.* Wallingford : CAB International, 1990. 131-156.

MALLO-GARCÍA, S. ; COTO-SEGURA, P. ; SANTOS-JUANES-JUIMÉNEZ, J. – Onicomycosis blanca subungueal proximal por *Fusarium*. **Actas Dermo-sifiliográficas.** 99 : 9 (Novembro 2008) 739-747.

MANCIATI, F. ; NARDONI, S. ; CORAZZA, M. – Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. **Journal of Feline Medicine and Surgery.** 5 : 8 (December 2003) 323-328.

MANDELL, G. L. ; KAUFFMAN, C. A. – *Atlas of fungal infection.* 3rd ed. New York: Springer, 2007.

MARAKI, S. ; TSELENTIS, Y. – Dermatophytoses in Crete, Greece, between 1992 and 1996. **Mycoses.** 41 : 3-4 (March-April 1998) 175-178.

MARCHELEWITZ, B. ; ZUCKER, G. – Ein beitrag zur verbreitung der dermatomykosen in der Nationalen Volksarmee. **Z Military Medicine.** 6 (1965) 351-360.

MARIVOET, S. – *Hábitos desportivos da população portuguesa.* Lisboa : Instituto Nacional de Formação e Estudos do Desporto, 2001.

MARTÍNEZ, A. C. ; ALVAREZ-MON, M. – O sistema imunológico (I) : conceitos gerais, adaptação ao exercício físico e implicações clínicas. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte.** 5 : 3 (Maio-Junho 1999) 141-150.

MARTINS-DINIS, J. N. ; DA DILVA, R. A. ; MIRANDA, E. T. – Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidades hospitalar. **Revista de Saúde Pública.** 39 : 3 (Junho 2005) 398-405.

MARUYAMA, R. ; HIRUMA, M. ; YAMAUCHI, K. – An epidemiological and clinic study of untreated patients with tinea pedis within a company in Japan. **Mycoses.** 46 : 5-6 (June 2003) 208-212.

MCBRIDE, A. ; COHEN, B. A. – Tinea pedis in children. **American Journal of Diseases of Children.** 146 : 7 (July 1992) 844-847.

- MEIRELES, T. E. ; ROCHA, M. F. ; BRILHANTE, R. S. – Sucessive mycological nail tests for onychomycosis : a strategy to improve diagnosis efficiency. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. 12 : 4 (August 2008) 333-337.
- MENETREZ, M. Y. ; FOARDE, K. K. ; WEBBER, T. D. – Mold growth on gypsum wallboard : a summary of three techniques. **Journal of Enviromental Health**. 72 : 1 (July-August 2009) 24-28.
- MENEZES, E. ; CARVALHO, P. ; TRINDADE, E. – Airborne fungi causing respiratory allergy in patients from Fortaleza, Ceará, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, São Paulo**. 40 : 2 (2004) 79-84.
- MENTESE, S. ; RAD, A. ; ARISOY, M. – Seasonal variation of bioaerossols in numerous indoor environments of a university campus. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 331.
- MERCANTINI, R. ; MORETTO, D. ; PALAMARA, G. – Epidemiology of dermatophytoses observed in Rome, Italy, between 1985 and 1993. **Mycoses**. 38 : 9-10 (September-October 1995) 415-419.
- MEZZARI, A. – Frequency of dermatophytes in the metropolitan area of Porto Alegre, RS, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 40 : 2 (April 1998) 71-76.
- MEZZARI, A. ; PERIN, C. ; SANTOS JR, S. A. – Os fungos anemófilos e sensibilização em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Revista da Associação Médica Brasileira**. 49 : 3 (Julho-Setembro 2003) 270-273.
- MILLER, J. D. – Fungi as contaminants of indoor air. **Atmospheric Environment**. 26 A : 12 (1992) 2163-2172.
- MILLER, J. D. ; HAISLEY, P. D. ; REINHARDT, J. H. – Air sampling results in relation to extent of fungal colonization of buildings materials in some water-damaged buildings. **Indoor Air**. 10 : 3 (September 2000) 146-151.
- MILLER, J. D. ; LAFLAMME, A. M. ; SOBOL, Y. – Fungi and fungal products in some Canadian houses. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 24 : 2 (1988) 103-120.
- MIRMIRANI, P. ; HESSOL, N. A. ; MAURER, T. A. – Prevalence and predictors of skin disease in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). **Journal of the American Academy of Dermatology**. 44 : 5 (May 2001) 785-788.
- MISHRA, S. K. ; AJELLO, L. ; AHEARN, D. G. – Environmental mycology and its importance to public health. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**. 30 : Suppl 1 (1992) 287-305.
- MONZÓN DE LA TORRE, A. ; CUENCA-ESTRELLA, M. ; RODRÍGUEZ-TUDELA, J. L. – Estudio epidemiológico sobre las dermatofitosis en España (abril-junio 2001). **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. 21 : 9 (2003) 477-483.

MOREY, P. R. – Bioaerosols in the indoor environment : current practices and approaches. In WEEKS, D. M. ; GAMMAGE, R.B., ed. lit. – The practitioner's approach to indoor air quality investigations. Akron, OH : American Industrial Hygiene Association, 1990. 51-72.

MOREY, P. R. ; HODGSON, M. J. ; SORENSON, W. G. – Environmental studies in moldy office buildings : biological agents, sources and preventive measures. **Annals of the American Conference of Governmental Industrial Hygienists**. 10 (1984) 21-35.

MÖRITZ, M. ; PETERS, H. ; NIPKO, B. – Capability of air filters to retain airborne bacteria and molds in heating, ventilating and air-conditioning (HVAC) systems. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**. 203 : 5-6 (2001) 401-409.

MUÑOZ, P. ; BURILLO, A. ; BOUZA, E. – Environmental surveillance and other control measures in the prevention of nosocomial fungal infections. **Clinical Microbiology and Infection**. 7 : Suppl 2 (2001) 38-45.

MURRAY, P. R. ; ROSENTHAL, K. S. ; PFALLER, M. A. – Medical microbiology. 5th ed. London : Elsevier Mosby, 2005.

MURRAY, S. C. ; DAWBER, R. P. – Onychomycosis of toenails : orthopaedic and podiatric considerations. **The Australasian Journal of Dermatology**. 43 : 2 (May 2002) 105-112.

MUST, A. ; BLOOM, E. ; SANDBERG, G. – Determination of mycoflora and mycotoxins in concealed constructions and in the indoor occupational space. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 284.

NATHANSON, T. – Indoor air quality in office buildings: a technical guide. [Em linha] Ottawa, ON : Health Canada, 1995. Disponível em http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/air/office_building-immeubles_bureaux/93ehd-dhm166-eng.pdf.

NELSON, H. S. ; HIRSCH, S. R. ; OHMAN, J. L. JR. – Recommendations for the use of residential air-cleaning devices in the treatment of allergic respiratory diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 82 : 4 (October 1988) 661-669.

NELSON, M. ; MARTINS, A. ; HEFFERMAST, M. – Dermatology in general medicine (Vol. II). 6th ed. London : McGraw-Hill, 2004.

NETO, V. A. ; TEDESCO, J. – Aspectos imunológicos da actividade física. **Revista de Medicina (São Paulo)**. 78 : 6 (1999) 491-497.

- NEVALAINEN, A. – Bio-aerosols as exposure agents in indoor environment in relation to asthma and allergy. [Em linha] In Proceedings of the First ENVIE Conference on Indoor Air Quality and Health for EU Policy: Helsinki, Finland, 2007. Disponível em http://www.inive.org/members_area/medias/pdf/Inive%5CEnVIE%5CNevalainen.pdf.
- NEVALAINEN, A. ; WILLEKE, K. ; LIEBHABER, F. – Bioaerosol sampling. In WILLEKE, K. ; BARON, P., ed. lit. – Aerosol measurement. New York : Van Nostrand Reinhold, 1993. 471-492.
- NEVES, H. ; XAVIER, N. – The transmission of *Tinea cruris*. **British Journal of Dermatology**. 76 : 10 (1964) 429-436.
- NINOMIYA, J. – Effect of temperature, humidity and minor injury to the penetration of dermatophytes into human stratum corneum. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**. 41 : 1 (2000) 5-9.
- NINOMIYA, J. ; IDE, M. ; ITO, Y. – Experimental penetration of Trichophyton mentagrophytes into human stratum corneum. **Mycopathologia**. 141 : 3 (1998) 153-157.
- NOGUCHI, H. ; HIRUMA, M. ; KAWADA, A. – Tinea pedis in members of the Japanese Self-Defense Forces : relationships of its prevalence and its severity with length of military service and width of interdigital spaces. **Mycoses**. 38 : 11-12 (November-December 1995) 494-499.
- NORBÄCK, D. ; BJÖRNSSON, E. ; JANSON, C. – Asthmatic symptoms and volatile organic compounds, formaldehyde, and carbon dioxide in dwellings. **Occupational and Environmental Medicine**. 52 : 6 (June 1995) 388-395.
- NUNES, C. ; LADEIRA, S. – Estudo da qualidade de ambiente fúngico em escolas e edifícios públicos no Algarve. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**. 15 : 5 (2007) 411-422.
- OCCUPATIONAL HEALTH AND SAFETY ADVISORY SERVICES (OHSAS) – BS OHSAS 18001 : 2007 – Occupational health and safety management systems (specification 1). Edinburgh : OHSAS, 2007.
- ODDS, F. C. – Candida and candidosis. 2nd ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1988.
- ODOM, R. B. – Common superficial fungal infections in immunosuppressed patients. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 31 : 3 Pt 2 (September 1994) S56-S59.
- OHGKE, H. ; GEERS, A. ; BECKERT, J. – Fungal load of indoor air in historical and newly constructed buildings used by public services. Proceedings of the 4th International Conference in Indoor Air Quality and Climate. 1 (1987) 681-684.

OPPLIGER, A. ; HILFIKER, S. ; VU DUC, T. – Influence of seasons and sampling strategy on assessment of bioaerosols in sewage treatment plants in Switzerland. **Annals of Occupational Hygiene**. 49 : 5 (July 2005) 393-400.

OREN, I. ; HADDAD, N. ; FINKELSTEIN, R. – Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients during hospital construction : before and after chemoprophylaxis and institution of HEPA filters. **American Journal of Hematology**. 66 : 4 (2001) 257-262.

ORESZCZYN, T. ; RIDLEY, I. ; HONG, S. H. – Mould and winter indoor relative humidity in low income households in England. **Indoor and Built Environment**. 15 : 2 (2006) 125-135.

OSAWA, C. C. ; ANDRIES JR, O. – Incidência de sintomas, doenças profissionais e doenças de trabalho em nadadores de competição da cidade de Campinas, São Paulo. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**. 28 : 107-108 (2003) 59-71.

OTTEN, J. ; BURGE, H. – Bacteria. In MACHER, J., ed. lit. – Bioaerosols, assessment and control. Cincinnati, OH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1999. 200-214.

OYEKA, C. A. ; UGWU, L. O. – Fungal flora of human toe webs. **Mycoses**. 45 : 11-12 (December 2002) 488-491.

OZKUTUK, A. ; CEYLAN, E. ; ERGOR, G. – The relationship between moulds isolated from indoor air and features of the house environment. **Indoor and Built Environment**. 17 : 3 (2008) 269-273.

PADILLA, A. ; SAMPEDRO, A. ; SAMPEDRO, P. – Estudio clínico y epidemiológico de las dermatofitosis en una Zona Básica de Salud de Jaén (España). **Revista Iberoamericana de Micología**. 19 : 1 (2002) 36-39.

PANAGOPOULOU, P. ; FILIOTI, J. ; PETRIKKOS, G. – Environmental surveillance of filamentous fungi in three tertiary care hospitals in Greece. **Journal of Hospital Infection**. 52 : 3 (November 2002) 185-191.

PARAT, S. ; PERDRIX, A. ; FRICKER-HIDALGO, H. – Multivariate analysis comparing microbial air content of an air-conditioned building and naturally ventilated building over one year. **Atmospheric Environment**. 31 (1997) 441-449.

PASANEN, A. L. ; JUUTINEN, T. ; JANTUNEN, M. J. – Occurrence and moisture requirements of microbial growth in building materials. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 30 (1992) 272-283.

PASTUSZKA, J. S. ; PAW, U. K. ; LIS, D. O. – Bacteria and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. **Atmospheric Environment**. 34 (2000) 3833-3842.

PAYÁ VICENS, M. J. ; SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. – A contribution towards the study of Madrid air mycoflora II. Genus Cladosporium. **Allergologia et Immunopathologia**. 12 : 5 (September-October 1984) 397-402.

- PEAT, J. K. ; TOVEY, E. ; MELLIS, C. M. – Importance of house dust mite and *Alternaria* allergens in childhood asthma : an epidemiological study in two climatic regions of Australia. **Clinical & Experimental Allergy**. 23 : 10 (October 1993) 812-820.
- PEJTERSEN, J. – Sensory pollution and microbial contamination of ventilation filters. **Indoor Air**. 6 : 4 (1996) 239-248.
- PEREA, S. ; RAMOS, M. J. ; GARAU, M. – Prevalence and risk factors of *Tinea unguium* and *Tinea pedis* in the general population in Spain. **Journal of Clinical Microbiology**. 38 : 9 (Setembro 2000) 3226-3230.
- PEREZ, H. R. ; ZIMMERMAN, N. J. ; BERHANE, Z. – Evaluation of culturable particle load on HVAC filters before and after remediation : a pilot study. **Indoor and Built Environment**. 15 : 6 (2006) 525-533.
- PIECKOVÁ, E. ; JESENSKÁ, Z. – Microscopic fungi in dwellings and their health implications in humans. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. 6 : 1 (1999) 1-11.
- PIER, A.C. ; SMITH, J. M. ; ALEXIOU, H. – Animal ringworm : its aetiology, public health significance and control. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**. 32 : Suppl 1 (1994) 133-150.
- PIÉRARD, G. E. – Onychomycosis and other superficial fungal infections of the foot in the elderly : a pan-european survey. **Dermatology**. 202 : 3 (2001) 220-224.
- PIÉRARD, G. E. ; ARRESE, J. E. ; PIERRE, S. – Apport de l'examen histologique et de la microscopie confocale in vivo dans les onychomycoses. **Annales de Dermatologie et de Vénérologie**. 121 : 1 (1994) 25-29.
- PINTO, G. M. ; TAPADINHAS, C. ; MOURA, C. – Tinhas em crianças: revisão de 5 anos, 1988-1992. **Trabalhos da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e de Venereologia**. LII (1994) 17-28.
- PITEIRA, C. – A qualidade do ar interior em instalações hospitalares. Lisboa : Lidel, 2007.
- PITT, J. L. – Toxicogenic fungi : wich are important? **Medical Mycology**. 38 : Suppl 1 (2000) 17-22.
- PONTES, Z. B. ; LIMA, E. O. ; OLIVEIRA, N. M. – Onychomycosis in João Pessoa City, Brazil. **Revista Argentina de Microbiología**. 34 : 2 (April-June 2002) 95-99.
- PREDICALA, B. Z. ; URBAN, J. E. ; MAGHIRANG, R. G. – Assessment of bioaerosols in swine barns by filtration and impaction. **Current Microbiology**. 44 : 2 (February 2002) 136-140.
- PRISTA, J. ; UVA, A. S. – Exposição profissional a agentes químicos : os indicadores biológicos na vigilância da saúde dos trabalhadores. **Revista Saúde e Trabalho**. 4 (2003) 5-12.

PRISTA, J. ; UVA, A. S. – A utilização de indicadores biológicos em saúde ocupacional. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. 6 (2006) 45-54.

Proceedings of the International Summit on Cutaneous Antifungal Therapy and Mycology Workshop, San Francisco, California, October 21-24, 1993. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 31 : 3 Pt 2 (September 1994) S1-S116.

PURIM, K. S. – Os pés como instrumentos de trabalho : o contexto da Tinea pedis em um time profissional de futebol. Curitiba : Universidade Federal do Paraná, 2004. Tese de doutoramento.

PURIM, K. S. ; BORDIGNON, G. P. ; QUEIROZ-TELLES, F. – Fungal infection of the feet in soccer players and non-athlete individuals. **Revista Iberoamericana de Micología**. 22 (2005) 34-38.

QUESADA, N. V. ; LANGE, J. H. – Final clearance criteria after mould remediation. **Indoor and Built Environment**. 13 : 3 (2004) 199-203.

RAHJHANS, G. S. – Findings of the Ontario Interministerial Committee on indoor air quality. In Proceedings of the ASHRAE/SOEH Conference on IAQ 1988, ASHRAE Inc., 1989. 195-223.

RAMACHANDRAN, G. ; ADGATE, J. L. ; BANERJEE, S. – Indoor air quality in two urban elementary schools : measurements of airborne fungi, carpet allergens, CO₂, temperature and relative humidity. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**. 2 : 11 (2005) 553-566.

RAMANI, R. ; SRINIVAS, C. R. ; RAMANI, A. – Molds in onychomycosis. **International Journal of Dermatology**. 32 : 12 (December 1993) 877-878.

RAO, C. Y. ; BURGE, H. A. ; CHANG, J. C. – Review of quantitative standards and guidelines for fungi in indoor air. **Journal of the Air & Waste Management Association**. 46 : 9 (September 1996) 899-908.

RAUTIALA, S. ; KANGAS, J. ; LOUHELAINEN, K. – Farmer's exposure to airborne microorganisms in composting swine confinement buildings. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 64 : 5 (2003) 673-677.

RAUTIALA, S. ; REPONEN, T. ; HYVARINEN, A. – Exposure to airborne microbes during the repair of mouldy buildings. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 57 (1996) 279-284.

REBOUX, R. ; HOUDROUGE, K. ; GLOAGUIDI-HAORE, Z. – Usefulness of environmental fungal surveillance in the prevention of invasive aspergillosis in haematology patients. **Mycoses**. 52 : 1 (2009) 27.

REN, P. ; JANKUN, T. M. ; LEADERER, B. P. – Comparisons of seasonal fungal prevalence in indoor and outdoor air and in house dusts of dwellings in one Northeast American county. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**. 9 : 6 (November-December 1999) 560-568.

REPONEN, T. – Proposal for an upper limit of the normal range of indoor air bacteria and fungal spores in subarctic climate. In Proceedings of the 5th International Conference in Indoor Air Quality and Climate. 2 (1990) 47-50.

REYNOLDS, S. J. ; STREIFEL, A. J. ; MCJILTON, C. E. – Elevated airborne concentrations of fungi in residential and office environment. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 51 : 11 (November 1990) 601-604.

RIES, J. – Mykosen und sport : verbreitung von mykosen bei sportschuhtragenden sportlern. Frankfurt am Main : Johann Wolfgang Goethe-Universität, 2002. Tese de doutoramento

ROBERT, R. ; PIHET, M. – Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. **Mycopathologia**. 166 : 5-6 (November-December 2008) 295-306.

ROBERTS, D. T. – Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom : results of an omnibus survey. **British Journal of Dermatology**. 126 : Suppl 39 (February 1992) 23-27.

ROBERTSON, L. D. – Monitoring viable fungal and bacterial bioaerosol concentrations to identify acceptable levels for common indoor environments. **Indoor and Built Environment**. 6 : 5 (1997) 295-300.

ROCHA, M. – Estudo micológico de frequentadores de instalações de uma piscina de Lisboa. Lisboa : [s.n.], 1999.

ROCK, J. – Occupational air sampling strategies. In COHEN, B. ; HERING, S. V., ed. lit. – Air sampling instruments for evaluation of atmospheric contaminants. 8th ed. Cincinnati : American Conference of Industrial Hygienists, 1995. 19-44.

RODRIGO, F. G. – Micoses superficiais. **Trabalhos da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e de Venereologia**. 55 : 4 (1998) 277-302.

RODRIGUES, A. G. ; ARAÚJO, R. – Comparison of Andersen and Honey Jar methods for monitoring hospital wards. **Indoor and Built Environment**. 16 : 1 (2007) 71-78.

ROMANO, C. ; GIANNI, C. ; DIFONSO, E. M. – Retrospective study of onychomycosis in Italy : 1985-2000. **Mycoses**. 48 : 1 (January 2005) 42-44.

ROSA, L. F. ; VAISBERG, M. W. – Influências do exercício na resposta imune. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. 8 : 4 (Julho-Agosto 2002) 167-172.

ROSAS, I. ; CALDERÓN, C. ; ESCAMILLA, B. – Seasonal distribution of *Aspergillus* in the air of an urban area: Mexico city. **Grana**. 31 : 4 (1992) 315-319.

ROSAS, I. ; CALDERÓN, C. ; ULLOA, M. – Abundance of airborne *Penicillium* CFU in relation to urbanization in Mexico city. **Applied and Environmental Microbiology**. 59 : 8 (August 1993) 2648-2652.

ROSE, C. S. ; MARTYNY, J. W. ; NEWMAN, L. S. – 'Lifeguard lung' : endemic granulomatous pneumonitis in an indoor swimming pool. **American Journal of Public Health**. 88 : 12 (December 1998) 1795-1800.

ROUSSEL, S. ; REBOUX, G. ; BELLANGER, A. P. – Characteristics of dwellings contaminated by moulds. **Journal of Environmental Monitoring**. 10 : 6 (June 2008) 724-729.

RUIZ, L. R. ; ZAITZ, C. – Dermatófitos e dermatofitoses na cidade de São Paulo no período de Agosto de 1996 a Julho de 1998. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 76 : 4 (Julho-Agosto 2001) 391-401.

SABARIEGO RUIZ, S. ; DE LA GUARDIA GUERRERO, C. D. ; ALBA SÁNCHEZ, F. – Estudio aerobiológico de los conídios de *Alternaria* y *Cladosporium* en la atmosfera de la ciudad de Almería (SE de España). **Revista Iberoamericana de Micología**. 21 : 3 (2004) 121-127.

SADAHIRO, A. – Estudo dos antígenos leucocitários humanos (HLA) em pacientes caucasianos Judeus Ashkenasitas com dermatofitose crônica causada por *Tricophyton rubrum*. São Paulo : Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 1998. 87 f. Tese de doutoramento

SADHRA, S. ; GARDINER, K. – Requirements of monitoring exposure to workplace contaminants. In SADHRA, S. ; RAMPAL, K., ed. lit. – Occupational health : risk assessment and management. London: Blackwell Science, 1999. 129-158.

SAHAY, R. ; PARVATANENI, S. ; BARNES, R. – Dynamics of surficial mold in indoor environment. In Proceedings of AIHce 2009 mold abstracts, June 2, 2009. 92.

SAHIN, I. ; KAYA, D. ; PARLAK, A. H. – Dermatophytoses in forestry workers and farmers. **Mycoses**. 48 : 4 (2005) 260-264.

SAHIN, I. ; OKSUZ, S. ; KAYA, D. – Dermatophytes in the rural area of Duzce, Turkey. **Mycoses**. 47 : 11-12 (2004) 470-474.

SAIS, G. ; JUCGLÀ, A. ; PEYRÍ, J. – Prevalence of dermatophyte onychomycosis in Spain : a cross-sectional study. **British Journal of Dermatology**. 132 : 5 (May 1995) 758-761.

SAMSON, R. ; HOEKSTRA, E. ; FRISVAD, J. – Introduction to food and airborne fungi. 6th ed. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.

SÁNCHEZ, M. ; MUÑOZ, M. ; GONZÁLEZ, A. – Fungal indoor air characterization in an old and in a modern building of Madrid, Spain. In **HEALTHY BUILDINGS**, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 706.

1. SANTOS, J. I. ; NEGRI, C. M. ; WAGNER, D. C. – Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianopolis, Santa Catarina, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 39 : 3 (Maio-Junho 1997) 137-140.

SANTOS, M. I. ; VENÂNCIO, A. ; LIMA, N. – Fungos contaminantes na indústria alimentar. Braga : Universidade do Minho, 1998.

SANTOUR, M. ; DALLE, F. ; OLIVIERI, C. – A prospective survey of air and surface fungal contamination in a medical mycology laboratory at a tertiary care university hospital. **American Journal of Infection Control**. 37 : 3 (2009) 189-194.

SARICA, S. ; ASA, A. ; OTKUN, M. T. – Monitoring indoor airborne fungi and bacteria in the different areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey. **Indoor and Built Environment**. 11 : 5 (2002) 285-292.

SAVINO, E. ; CARETTA, G. – Airborne fungi in an Italian rice mill. **Aerobiologia**. 8 : 2 (August 1992) 267-275.

SCHEFF, P. ; PAULIUS, V. K. ; CURTIS, L. – Indoor air quality in a middle school, Part II : development of emission factors for particulate matter and bioaerosols. **Applied Occupational and Environmental Hygiene**. 15 : 11 (November 2000) 835-842.

SEEBACHER, C. – Untersuchungen über die pilzflora kranker und gesunder Zehennägel. **Mycoses**. 11 : 12 (1968) 893-902.

SEEBACHER, C. – The change of dermatophyte spectrum in dermatomycoses. **Mycoses**. 46 : Suppl 1 (2003) 42-46.

SEEBACHER, C. ; BOUCHARA, J. P. ; MIGNON, B. – Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. **Mycopathologia**. 166 : 5-6 (November-December 2008) 335-352.

SEEBACHER, C. ; BRASCH, J. ; ABECK, D. – Onychomycosis. **Mycoses**. 50 : 4 (July 2007) 321-327.

SEGAL, R. ; KIMCHI, A. ; KRITSMAN, A. – The frequency of *Candida parapsilosis* in onychomycosis : an epidemiology survey in Israel. **Mycoses**. 43 : 9-10 (October 2000) 349-353.

SEGUNDO, C. ; MARTÍNEZ, A. ; ARENAS, R. – Dermatomicosis por *Microsporum canis* en humanos y animales. **Revista Iberoamericana de Micología**. 21 : 1 (2004) 39-41.

SELLAMI, A. ; SELLAMI, H. ; MAKNI, F. – Childhood dermatomycoses study in Sfax hospital, Tunisia. **Mycoses**. 51 : 5 (September 2008) 451-454.

SENKPIEL, K. ; KUROWSKI, V. ; OHGKE, H. – Investigation of fungal contamination of indoor air in homes of selected patients with asthma bronchiale. **Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin**. 198 (1996) 191-203.

SHELTON, B. G. ; KIRKLAND, K. H. ; FLANDERS, W. D. – Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. **Applied and Environmental Microbiology**. 68 : 4 (April 2002) 1743-1753.

SHEMER, A. ; DAVIDOVICI, B. ; GRUNWALD, M. H. – New criteria for the laboratory diagnosis of nondermatophyte moulds in onychomycosis. **British Journal of Dermatology**. 160 : 1 (2009) 37-39.

SHIRAKI, Y. ; HIRUMA, M. ; HIROSE, N. – Commonly affected body sites in 92 Japanese combat sports participants with *Trichophyton tonsurans* infection. **Mycoses**. 52 : 4 (2008) 339-342.

SIGLER, L. ; ABBOTT, S. P. ; GAUVREAU, H. – Assessment of worker exposure to airborne molds in honeybee overwintering facilities. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 57: 5 (May 1996) 484-490.

SIGURGEIRSSON, B. ; STEINGRIMSSON, O. – Risk factors associated with onychomycosis. **Journal of European Academy of Dermatology and Venereology**. 18 : 1 (2004) 48-51.

SIMERAY, J. ; MANDIN, D. ; CHAUMONT, J. P. – Variations in the distribution of fungal spores in the atmosphere of bakeries : impact on the study of allergies. **Grana**. 34 : 4 (August 1995) 269-274.

SINGH, D. ; PATEL, D. C. ; ROGERS, K. – Epidemiology of dermatophyte Infection in Auckland, New Zealand. **The Australasian Journal of Dermatology**. 44 : 4 (November 2003) 263-266.

SINGH, I. ; MISHRA, A. ; KUSHWAHA, R. – Dermatophytes, related keratinophilic and opportunistic fungi in indoor dust of houses and hospitals. **Indian Journal of Medical Microbiology**. 27 : 3 (July-September 2009) 242-246.

SINGH, J. – Occupational exposure to moulds in buildings. **Indoor and Built Environment**. 10 : 3-4 (2001) 172-178.

SISTEMA NACIONAL DE CERTIFICAÇÃO ENERGÉTICA DA QUALIDADE DO AR INTERIOR NOS EDIFÍCIOS (SCE) – Nota técnica NT-SCE-02 : metodologia para auditorias periódicas de QAI em edifícios de serviços existentes no âmbito do RSECE. [Em linha] SCE, 2009. Disponível em http://www.anet.pt/downloads/legislacao/NT_SCE_Abril_2009.pdf.

SMID, T. ; SCHOKKIN, E. ; BOLEIJ, J. S. – Enumeration of viable fungi in occupational environments : a comparison of samplers and media. **American Industrial Hygiene Association Journal**. 50 : 5 (May 1989) 235-239.

SMITH, J. E. ; ANDERSON, J. G. ; LEWIS, C. W. – Cytotoxic fungal spores in the atmosphere of the damp domestic environment. **FEMS Microbiology Letters**. 1000 (1992) 337-344.

SOLANS, X. ; ALONO, R. M. ; CONSTANS, A. – Exposición laboral a hongos y bacterias ambientales en una planta de selección de residuos de envases. **Revista Iberoamericana de Micología**. 24 : 2 (2007) 131-135.

SOLOMON, W. R. – Assessing fungus prevalence in domestic interiors. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 56 : 3 (September 1975) 235-242.

SOLOMON, W. R. ; BURGE, H. A. ; BOISE, J. R. – Exclusion of particulate allergens by window air conditioners. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. 65 : 4 (April 1980) 308-308.

SOUSA, J. P. ; FRANCO, M. H. ; RODRIGUES, M. A. – Riscos dos agentes biológicos. Lisboa : IDICT, 2001.

SPICER, R. C. ; GANGLOFF, H. J. – Bioaerosol data distribution : probability and implications for sampling in evaluating problematic buildings. **Applied Occupational and Environmental Hygiene**. 18 : 8 (August 2003) 584-590.

SPORIK, R. B. ; ARRUDA, L. K. ; WOODFOLK, J. – Environmental exposure to *Aspergillus fumigatus* allergen (Asp – F – I). **Clinical & Experimental Allergy**. 23 : 4 (April 1993) 326-331.

SRIKANTH, P. ; SUDHARSANAM, S. ; STEINBERG, R. – Bio-aerosols in indoor environment : composition, health effects and analysis. **Indian Journal of Medical Microbiology**. 26 : 4 (October-December 2008) 302-312.

STAIB, F. ; GROSSE, G. – Isolation of *sporothrix schenckii* from the floor of an indoor swimming pool. **Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene B**. 177 : 6 (September 1983) 499-506.

STERLING, E. M. ; ARUNDEL, A. ; STERLING, T. D. – Criteria for human exposure to humidity in occupied buildings. **ASHRAE Transactions**. 91 : 1 (1985) 611-622.

STETZENBACH, L. D. ; BUTTNER, M. P. ; CRUZ, P. – Detection and enumeration of airborne biocontaminants. **Current Opinion in Biotechnology**. 15 : 3 (June 2004) 170-174.

STEVENS, D. – Fungi in the domestic environment and community settings : association with health problems. International Scientific Forum on Health Hygiene, 2004.

STONE, N. ; DAWBER, R. – Crinkly toenails. **BMJ**. 320 : 7232 (February 2000) 448.

STRACHAN, D. P. ; FLANNIGAN, B. ; MCCABE, E. M. – Quantification of airborne moulds in the homes of children with and without wheeze. **Thorax**. 45 : 5 (May 1990) 382-387.

STREIFEL, A. J. – Air cultures and fungi. In GILCRIST, M., ed. lit. – Clinical microbiological procedures handbook. Washington, DC : American Society for Microbiology Press, 1992. 11.8.1-11.8.7.

STROHL, W. A. ; ROUSE, H. ; FISHER, B. – Lippincott illustrated reviews : microbiology. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

STURDE, H. C. ; MEIER, H. – Untersuchungsbericht über die morbidität an Tinea pedis (Epidermophytie) bei soldaten der Bundeswehr. **Z Hautkrankh.** 31 (1961) 345-351.

SU, H. J. ; ROTNITZKY, A. ; BURGE, H. C. – Examination of fungi in domestic interiors by using factors analysis : correlations and associations with home factors. **Applied and Environmental Microbiology.** 58 (1992) 181-186.

SU, H. J. ; WU, P. C. ; CHEN, H. L. – Exposure assessment of indoor allergens, endotoxin, and airborne fungi for homes in Southern Taiwan. **Environmental Research.** 85 : 2 (February 2001) 135-144.

SUDHARSANAM, S. ; SRIKANTH, P. ; SHEELA, M. – Study of the indoor air quality in hospitals in South Chennai, India : microbial profile. **Indoor and Built Environment.** 17 : 5 (2008) 435-441.

SUMMERBELL, R. C. – Epidemiology and ecology of onychomycosis. **Dermatology.** 194 : Suppl 1 (1997) 32-36.

SURJUSHE, A. ; KAMATH, R. ; OBERAI, C. – A clinical and mycological study of onychomycosis in HIV infection. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology.** 73 : 6 (2007) 397-401.

SVEJGAARD, E. L. – Epidemiology of dermatophytes in Europe. **International Journal of Dermatology.** 34 : 8 (August 1995) 525-528.

SVEJGAARD, E. L. ; NILSSON, J. – Onychomycosis in Denmark : prevalence and fungal nail infection in general practice. **Mycoses.** 47 : 3-4 (April 2004) 131-135.

SZEPIETOWSKI, J. C. – Onychomycosis : prevalence of clinical types and pathogens. In KUSHWAHA, R., ed. lit. – Fungi in human and animal health. Jodhpur, India : Scientific Publishers, 2004a. 39-54.

SZEPIETOWSKI, J. C. – Selected clinical aspects of onychomycosis. **Mikol Lek.** 11 : 2 (2004b) 119-128.

SZEPIETOWSKI, J. C. ; REICH, A. – Stigmatisation in onychomycosis patients : a population-based study. **Mycoses.** 52 : 4 (2009) 343-349.

SZEPIETOWSKI, J. C. ; REICH, A. ; GARLOWSKA, E. – Factors influencing coexistence of toenail onychomycosis with Tinea pedis and other dermatomycoses. **Archives of Dermatology.** 142 : 10 (October 2006) 1279-1284.

SZEPIETOWSKI, J. C. ; REICH, A. ; PAEAN, P. – Evaluation of quality of life in patients with toenail onychomycosis by Polish version of an international onychomycosis-specific questionnaire. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. 21 : 4 (2007) 491-496.

SZEPIETOWSKI, J. C. ; SALOMON, J. – Do fungi play a role in psoriatic nails? **Mycoses**. 50 : 6 (2007) 437-442.

TABLAN, O. C. ; ANDERSON, L. J. ; BESSER, R. – Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003 recommendations of the CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. **MMWR**. 53 : RR03 (March 2004) 1-36.

TAKAHASHI, T. – Airborne fungal colony-forming units in outdoor and indoor environments in Yokohama, Japan. **Mycopathologia**. 139 : 1 (1997) 23-33.

TARIQ, S. M. ; MATTHEWS, S. M. ; STEVENS, M. – Sensitization to *Alternaria* and *Cladosporium* by the age of 4 years. **Clinical & Experimental Allergy**. 26 : 7 (1996) 794-798.

TÁVORA, L. G. ; GAMBALE, W. ; HEINS-VACCARI, E. M. – Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 36 : 5 (May 2003) 613-616.

TELES, R. ; ROSADO, M. – Micoses nos pés, numa amostragem colhida numa fábrica de montagem de automóveis numa região industrial dos arredores de Lisboa. **Arquivos do Instituto Nacional de Saúde (Separ)**. 14 (1989) 175-178.

TORRES-RODRÍGUEZ, J. M. ; LÓPEZ-JODRA, O. – Epidemiology of nail infection due to keratinophilic fungi. **Revista Iberoamericana de Micología**. 17 (2000) 122-135.

TOSTI, A. ; PIRACCINI, B. M. ; LORENZI, S. – Onychomycosis caused by nondermatophytic molds : clinical features and response to treatment of 59 cases. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 42 : Pt 1 (February 2000) 217-224.

TROUT, D. ; BERNSTEIN, J. ; MARTINEZ, K. – Bioaerosol lung damage in a worker with repeated exposure to fungi in a water-damaged building. **Environmental Health Perspectives**. 109 : 6 (June 2001) 641-644.

TSAI, S. M. ; YANG, C. S. ; CRANDAL, M. S. – Measurements of airborne fungal and endotoxin levels in water-damaged buildings. Indoor Air Quality 2001 Moisture, Microbes, and Heath Effects : Indoor Air Quality and Moisture in Buildings.

TUOMI, T. ; REIJULA, K. ; JOHNSON, T. – Mycotoxins in crude building materials from water damaged buildings. **Applied and Environmental Microbiology**. 66 : 5 (May 2000) 1899-1904.

TUON, F. F. ; COSTA, S. F. – Rhodotorula infection : a systemic review of 128 cases from literature. **Revista Iberoamericana de Micología**. 25 : 3 (September 2008) 135-140.

UCHIDA, K. ; TANAKA, T. ; YAMAGUCHI, H. – Achievement of complete mycological cure by topical antifungal agent NND-502 in guinea pig model of tinea pedis. **Microbiology and Immunology**. 47 : 2 (2003) 143-146.

ULFIG, K. – The occurrence of keratinolytic fungi in waste and waste-contaminated habitats. **Revista Iberoamericana de Micología**. Suppl (2000) 44-50.

UNGPAKORN, R. – Mycoses in Thailand : current concerns. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**. 46 : 2 (2005) 81-86.

UNGPAKORN, R. ; LOHAPRATHAN, S. ; REANGCHAINAM, S. – Prevalence of foot diseases in outpatients attending the Institute of Dermatology, Bangkok, Thailand. **Clinical and Experimental Dermatology**. 29 : 1 (January 2004) 87-90.

UNLU, M. ; ERGIN, C. ; CIRIT, M. – Molds in the homes of asthmatic patients in Isparta, Turkey. **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**. 21 : 1 (March 2003) 21-24.

UVA, A. S. – Diagnóstico e gestão do risco em saúde ocupacional. Lisboa : ISHST, 2006a.

UVA, A. S. – Avaliação e gestão do risco em saúde ocupacional : algumas vulnerabilidades. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. 24 : nº temático (2006b) 5-12.

UVA, A. S. ; FARIA, M. – Exposição profissional a substâncias químicas : diagnóstico das situações de risco. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. 18 : 1 (2000) 5-9.

VACHOVA, M. ; BUCHTA, V. ; PRYMULA, R. – The occurrence of microscopic fungi in air samples from a transplant intensive care unit. **Indoor and Built Environment**. 15 : 1 (2006) 115-118.

VALDIGEM, G. L. ; PEREIRA, T. ; MACEDO, C. – A twenty-year survey of dermatophytoses in Braga, Portugal. **International Journal of Dermatology**. 45 : 7 (July 2006) 822-827.

VAN DEN BERGH, M. F. ; VERWEIJ, P. E. ; VOSS, A. – Epidemiology of nosocomial fungal infections : invasive aspergillosis and the environment. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. 34 : 3 (July 1999) 221-227.

VEER, P. ; PATWARDHAN, N. ; DAMLE, A. S. – Study of onychomycosis : prevailing fungi and pattern of infection. **Indian Journal of Medical Microbiology**. 25 : 1 (January 2007) 53-56.

VELHO, R. ; TOMÉ, R. ; BOAVENTURA, L. – Dermatophytes isolated at H. U. Coimbra in the last twelve years. In 3rd Meeting of the European Confederation of Medical Mycology, Lisbon, 1996: Poster 7.18.

VELLA ZAHRA, L. ; GATT, P. ; BOFFA, M. J. – Characteristics of superficial mycoses in Malta. **International Journal of Dermatology**. 42 : 4 (April 2003) 265-271.

VERHOEFF, A. P. ; VAN WIJNEN, J. H. ; BOLEIJ, J. S. – Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. **Allergy**. 45 : 4 (May 1990) 275-284.

VERHOEFF, A. P. ; VAN WIJNEN, J. H. ; BRUNEKREEF, B. – Presence of viable mould propagules in indoor air in relation to house damp and outdoor air. **Allergy**. 47 : 2 Pt 1 (April 1992) 83-91.

VERMOUT, S. ; TABART, J. ; BALDO, A. – Pathogenesis of dermatophytosis. **Mycopathologia**. 166 : 5-6 (November-December 2008) 267-275.

VESPER, S. J. ; DEARBORN, D. G. ; YIKE, I. – Evaluation of *Stachybotrys chartarum* in the house of an infant with pulmonary hemorrhage : quantitative assessment before, during, and after remediation. **Journal of Urban Health**. 77 : 1 (March 2000) 68-85.

VESPER, S. J. ; VESPER, M. J. – Stachylysin may be a cause of haemorrhaging in humans exposed to *Stachybotrys chartarum*. **Infection and Immunity**. 70 : 4 (2002) 2065-2069.

VIEGAS, C. ; ALVES, C. ; CAROLINO, E. – Prevalência de fungos nas superfícies : o caso dos ginásios com piscina. **Saúde & Tecnologia**. 3 (2009) 31-37.

VIEGAS, C. ; ALVES, C. ; CAROLINO, E. – Infecção fúngica ocupacional. In: SHO 2010, proceedings do colóquio internacional de segurança e higiene ocupacionais, Guimarães, Fevereiro 11-12, 2010.

VILLARDI, A. – As lesões no futebol. In BARROS, T. L. ; GUERRA, I., ed. lit. – Ciência do futebol. Barueri : Manole, 2004. 101-178.

WANG, H. Q. ; CHEN, J. D. ; ZHANG, H. – Ventilation, air conditioning and the indoor air environment. **Indoor and Built Environment**. 10 : 1 (2001) 52-57.

WATANABE, K. ; TANIGUCHI, H. ; KATOH, T. – Adhesion of dermatophytes to healthy feet and its simple treatment. **Mycoses**. 43 : 1-2 (2000) 45-50.

WEINECK, J. – Treinamento ideal. 9ª ed. São Paulo : Manole, 1999.

WEITZMAN, I. ; SUMMERBELL, R. C. – The dermatophytes. **Clinical Microbiology Reviews**. 8 : 2 (April 1995) 240-259.

WERGIKOSKI, B. – Avaliação da qualidade micológica do ar interior no Instituto do Ambiente. Lisboa : Agência Portuguesa do Ambiente, 2004.

WILLIAMS, H. C. – The epidemiology of onychomycosis in Britain. **British Journal of Dermatology**. 129 : 2 (August 1993) 101-109.

WILLIAMSON, I. J. ; MARTIN, C. J. ; MCGILL, G. – Damp housing and asthma : a case-control study. **Thorax**. 52 : 3 (March 1997) 229-234.

WONG, L. T. ; MUI, K. W. ; HUI, P. S. – Thermal environmental interference with airborne bacteria and fungi levels in air-conditioned offices. **Indoor and Built Environment**. 17 : 2 (2008) 122-127.

WOODFOLK, J. A. – Allergy and dermatophytes. **Clinical Microbiology Reviews**. 18 : 1 (January 2005) 30-43.

WU, P. C. ; LI, Y. Y. ; CHIANG, C. M. – Changing microbial concentrations area associated with ventilation performance in Taiwan's air-conditioned office buildings. **Indoor Air**. 15 : 1 (February 2005) 19-26.

YANG, C. ; HUNG, L. ; LEWIS, F. – Airborne fungal populations in non-residential buildings in the United States. In Proceedings of the 6th International Conference in Indoor Air Quality and Climate. 4 (1993) 219-224.

YAO, M. ; MAINELIS, G. – Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**. 4 : 7 (July 2007) 514-524.

ZAIAS, N. – Onychomycosis. **Archives of Dermatology**. 105 : 2 (February 1972) 263-274.

ZAIÁS, N. ; TOSTI, A. ; REBELL, G. – Autosomal sominant pattern of distal subungual onychomycosis caused by *T. rubrum*. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 34 (1996) 302-304.

ZAITS, C. ; CAMPBELL, I. ; MARQUES, S. A. – Compêndio de micologia médica. São Paulo : MEDSI, 1998.

ZHICHENG, S. ; PANGCHENG, L. – Occupational mycoses. **British Journal of Industrial Medicine**. 43 (1986) 500-501.

ZORMAN, T. ; JERSEK. – Assessment of bioaerosol concentrations in different indoor environments. **Indoor and Built Environment**. 17 : 2 (2008) 155-163.

Bibliografía

- ACHTEN, G. ; WANET-ROUARD, J. – Onychomycosis in the laboratory. **Mykosen**. 21 (1978) 125-127.
- AGHAMIRIAN, M. R. ; GHIASIAN, S. A. M – Dermatophytoses in outpatients attending the Dermatology Center of Avicenna Hospital in Qazvin, Iran. **Mycoses**. 51 : 2 (2007) 155-160.
- BAENCKO, V. – The quality of the indoor environment in hospitals. **Indoor and Built Environment**. 12 : 1-2 (2003) 5-7.
- BARNETT, V. – Sample survey : principles & methods. 3rd ed. London : Arnold, 2002.
- BEGUIN, H. ; NOLARD, N. – Moulds biodiversity in homes I. Air and surface analysis of 130 dwellings. **Aerobiologia**. 10 : 2-3 (December 1994) 157-166.
- BRAMONO, K. ; BUDIMULJA, U. – Pathogenesis of superficial mycosis. **Japanese Journal of Medical Micrology**. 46 (2005) 171-124.
- CHANUSSOT, C. ; ARENAS-GUZMÁN, R. – Infección micótica plantar e interdigital en pacientes con onicomicosis. **Revista Iberoamericana de Micología**. 24 (2007) 118-121.
- DALES, R. ; LIU, L. ; WHEELER, A. J. – Quality of indoor residential air and health. **Canadian Medical Association Journal**. 179 : 2 (July 2008) 147-152.
- D'AMATO, G. ; CHATZIGEORGIOU, G. ; CORSICO, R. – Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with suspected respiratory allergy. A European multicenter study promoted by the subcommittee on aerobiology and environmental aspects of the European academy of allergology and clinical immunology. **Allergy**. 52 : 7 (July 1997) 711-716.
- DELGADO-RODRÍGUEZ, M. ; GÓMEZ-ORTEGA, A. ; SILLERO-ARENAS, M. – Efficacy of surveillance in nosocomial infection control in a surgical service. **American Journal of Infection Control**. 29 : 5 (October 2001) 289-294.
- DILLON, H. K. ; HEINSOHN, P. ; MILLER, J. D., eds – Field guide for the determination of biological contaminants in environmental samples. 2nd ed. Fairfax, VA : American Industrial Hygiene Association, 2005.
- EDMONDS, J. M. ; COLLETT, P. J. ; VALDES, E. R. – Surface sampling of spores in dry-deposition aerosols. **Applied and Environmental Microbiology**. 75 : 1 (January 2009) 39-44.

FALCÓN, C. S. ; FALCÓN, M. DEL M. ; CEBALLOS, J. D. – Onychomycosis by *Chaetomium* spp. **Mycoses**. 52 : 1 (January 2009) 77-79.

FLANNIGAN, B. – Biological particles in the air of indoor environments. In JOHANNING, E. ; YANG, C. S., ed. lit. – International conference on fungi and bacteria in indoor air environments : October 6, 1994, Saratoga Springs, New York. Eastern New York Occupational Health Programa, 1995.

FLANNIGAN, B. – Air sampling for fungi in indoor environments. **Journal of Aerosol Science**. 28 : 3 (April 1997) 381-392.

GARCÍA-MATOS, P. ; DOMÍNGUEZ, I. ; MARÍN P. – Onicomycosis por hongos filamentosos no dermatofíticos en Cádiz. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. 18 : 7 (Agosto-Setembro 2000) 319-324.

GEE, I. – Monitoring indoor air pollution. **Indoor and Built Environment**. 10 : 3-4 (2001) 123-124.

GENTLES, J. C. ; EVANS, E. G. – Foot infections in swimming baths. **British Medical Journal**. 3 : 5874 (August 1973) 260-262.

GOODMAN, D. S. ; TEPLITZ, E. D. ; WISHNER, A. – Prevalence of cutaneous disease in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS related complex. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 17 : 2 Pt 1 (August 1987) 210-220.

GRIGORIU, D. ; GRIGORIU, A. – Les onychomycosis. **Revue Médicale de la Suisse Romande**. 95 (1975) 839-849.

HANEKE, E. ; ROSEEUW, D. – The scope of onychomycosis : epidemiology and clinical features. **International Journal of Dermatology**. 38 : Suppl 2 (September 1999) 7-12.

HAPCIOGLU, B. ; YEGENOGLU, Y. ; ERTURAN, Z. – Heterotrophic bacteria and filamentous fungi isolated from a hospital water distribution system. **Indoor and Built Environment**. 14 : 6 (2005) 487-493.

HAVERINEN, U. ; HUSMAN, T. ; PEKKANEN, J. – Characteristics of moisture damage in houses and their association with self-reported symptoms of the occupants. **Indoor and Built Environment**. 10 : 2 (2001) 83-94.

HOHAUS, K. ; VENNEWALD, I. ; WOLLINA, U. – Deep mycosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* in a diabetic patient. **Mycoses**. 46 : 8 (September 2003) 355-357.

KALLIOKOSKI, P. – Risks caused by airborne microbes in hospitals : source control is important. **Indoor and Built Environment**. 12 : 1-2 (2003) 41-46.

KALOGERAKIS, N. ; PASCHALI, D. ; LEKADITIS, V. – Indoor air quality : bioaerosol measurements in domestic and office premises. **Journal of Aerosol Science**. 36 : 5-6 (2005) 751-761.

KAPLAN, M. H. ; SADICK, N. ; MCNUTT, N. S. – Dermatological findings and manifestations of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Journal of the American Academy of Dermatology**. 16 : 3 Pt 1 (March 1987) 485-506.

KHOSRAVI, A. R. ; MAHMOUDI, M. – Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. **Mycoses**. 46 : 5-6 (June 2003) 222-225.

KOSHNIK, R. L. ; LILLY, K. K. ; ST. CLAIR, K. – Use of diagnostic tests by dermatologists, podiatrists and family practitioners in the United States : pilot data from a cross-sectional survey. **Mycoses**. 50 : 6 (November 2007) 463-469.

KRENTEL, G. – Fungal flora of the nails in consideration of *Trichophyton megninii*. **Dermatologische Monatsschrift**. 156 : 6 (1970) 627-634.

KUKKONEN, E. ; SKARET, E. ; SUNDELL, J. – Indoor climate problems : investigation and remedial measures. [Em linha] Espoo, Finland : Nordtest, 1993. Disponível em <http://www.nordicinnovation.net/nordtestfiler/tec204.pdf>.

LAND, C. J. ; MUST, A. ; HÖGBERG, N. – Identification of fungi, especially *Stachybotrys chartarum* from gypsum boards, by means of PCR and sequencing of ribosomal DNA. **Indoor and Built Environment**. 12 : 4 (2003) 227-229.

LANGE, J. H. – Mould : the next environmental industry. **Indoor and Built Environment**. 13 : 3 (2004) 165-167.

LANGE, J. H. – Statistical distribution of airborne mould and causes of mould allergies. **Indoor and Built Environment**. 14 : 5 (2005) 443-444.

LARSSON, L. ; LARSSON, P. F. – Analysis of chemical markers as a means of characterising airborne micro-organisms in indoor environments: a case study. **Indoor and Built Environment**. 10 : 3-4 (2001) 232-237.

LAWRENCE, A. J. ; TANEJA, A. – An investigation of indoor air quality in rural residential houses in India : a case study. **Indoor and Built Environment**. 14 : 3-4 (2005) 321-329.

LIAUTAUD, B. ; GROSSHANS, E. ; BASSET, M. – Onychomycosis due to saprophytic fungi. **La Presse Médicale**. 79 (1971) 1163-1166.

MARUYAMA, R. ; KATOH, T. ; NISHIOKA, K. – Demonstration of dermatophyte dissemination from the infected soles using the foot-press method. **Mycoses**. 41 : 3-4 (March-April 1998) 145-151.

MATIS, W. L. ; TRIANA, A. ; SHAPIRO, R. – Dermatologic findings associated with human immunodeficiency virus infection. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 17 : 5 Pt 1 (November 1987) 746-751.

MENETREZ, M. Y. ; FOARDE, K. K. – Microbial volatile organic compound emission rates and exposure model. **Indoor and Built Environment**. 11 : 4 (2002) 208-213.

MENETREZ, M. Y. ; FOARDE, K. K. – Emission exposure model for the transport of toxic mold. **Indoor and Built Environment**. 13 : 1 (2004) 75-82.

MENETREZ, M. Y. ; FOARDE, K. K. – Research and development of prevention and control measures for mold contamination. **Indoor and Built Environment**. 13 : 2 (2004) 109-114.

MITAKAKIS, T. Z. ; TOVEY, E. R. ; XUAN, W. – Personal exposure to allergenic pollen and mould spores in inland New South Wales, Australia. **Clinical & Experimental Allergy**. 30 : 12 (December 2000) 1733-1739.

MORENO-ANCILLO, A. ; DOMÍNGUEZ-NOCHÉ, C. ; GIL-ADRADOS, A. C. – Familiar presentation of occupational hypersensitivity pneumonitis caused by *Aspergillus*-contaminated esparto dust. **Allergologia et Immunopathologia**. 31 : 5 (September-October 2003) 294-296.

MORIELLO, K. A. – Diagnostic techniques for dermatophytosis. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**. 16 : 4 (November 2001) 219-224.

NEVALAINEN, A. ; MEKLIN, T. ; HAVERINEN-SHAUGHNESSY, U. – Developing national guidelines for management of moisture and mold in schools. In HEALTHY BUILDINGS, 9th international conference & exhibition, Syracuse, NY, September 13-17, 2009. 242.

PANASITI, V. ; BORRONI, R. G. ; DEVIRGILIIS, V. – Comparison of diagnostic methods in the diagnosis of dermatomycoses and onychomycoses. **Mycoses**. 49 : 1 (January 2006) 26-29.

PIÉRARD, G. E. ; PIÉRARD-FRANCHIMONT, C. – The nail under fungal siege in patients with type II diabetes mellitus. **Mycoses**. 48 : 5 (September 2005) 339-342.

PUJOL, I. ; AGUILAR, C. ; GENÉ, J. – In vitro antifungal susceptibility of *Alternaria* spp. and *Ulocladium* spp. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 46 : 2 (August 2000) 337-338.

QURESHI, H. S. ; ORMSBY, H. A. ; KAPADIA, N. – Effects of modified sample collection technique on fungal culture yield : nail clipping/scraping versus microdrill. **Journal of the Pakistan Medical Association**. 54 : 6 (June 2004) 301-305.

ROMANO, C. ; MASSAI, L. ; ASTA, F. – Prevalence of dermatophytic skin and nail infections in diabetic patients. **Mycoses**. 44 : 3-4 (May 2001) 83-86.

ROMANO, C. ; MASSAI, L. ; GALLO, A. – Microsporium gypseum infection in the Siena area in 2005-2006. **Mycoses**. 52 : 1 (January 2009) 67-71.

ROSEEUW, D. – Achilles foot screening project : preliminary results of patints screened by dermatologists. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. 12 : Suppl 1 (September 1999) S6-S9.

SIDRIM, J. J. ; MOREIRA, J. L. – Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1999.

SPICER, R. C. ; GANGLOFF, H. J. – Establishing site specific reference levels for fungi in outdoor air for building evaluation. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**. 2 : 5 (2005) 257-266.

STEVANOVIC, D. – Nevoid basal cell carcinoma syndrome. **Archives of Dermatology**. 96 : 6 (December 1967) 696-698.

SUMMERBELL, R. C. ; COOPER, E. ; BUNN, U. – Onychomycosis : a critical study of techniques and criteria for confirming the etiologic significance of nondermatophytes. **Medical Mycology**. 43 : 1 (February 2005) 39-59.

URBANOVÁ, D. ; FRÁGNER, P. – Generalized candidiases verified through anatomical and cultivation methods. **Acta Universitatis Carolinae Medica**. 12 : 1 (1966) 41-65.

VITEL, C. – The quality of the air in our buildings. **Indoor and Built Environment**. 10 : 3-4 (2001) 266-270.

WALSHE, M. M. ; ENGLISH, M. P. – Fungi in nails. **British Journal of Dermatology**. 78 : 4 (April 1966) 198-207.

ZOLLNER, R. M. ; PODDA, M. ; KAUFFMAN, R. – Increased incidence of skin infections in atopy : evidence for an antigen-specific homing defect? **Clinical & Experimental Allergy**. 32 : 2 (February 2002) 180-185.

APÊNDICES



64083

Questionário

Este Questionário, **de carácter confidencial**, pretende obter informações sobre os profissionais e utilizadores frequentes das piscinas e ginásios. A informação obtida será utilizada na realização de um trabalho de investigação sobre

"Exposição a Fungos nas Piscinas e Ginásios"

Face ao seu processo de tratamento (leitura óptica), este questionário deve ser preenchido utilizando caneta ou esferográfica preta ou azul e preenchido como mostra o exemplo.

Preencha

assim ☒assim não ☐se rasurado ☐

Nº de ordem:

1 - CARACTERÍSTICAS PESSOAIS

1.1 - Profissão: _____ 1.2 - Ano de Nascimento: _____ 1.3 - Sexo ☐ Feminino ☐ Masculino

1.4 - Local de Trabalho

☐ Piscina ☐ Ginásio ☐ Health Club

1.5 Habilitações Literárias

☐ 4ª classe ☐ 6º ano ☐ 9º ano ☐ 12º ano ☐ Ensino Superior ☐ Outra Qual? _____

1.6.- No ÚLTIMO ANO teve alguma destas doenças?

- ☐ Diabetes
☐ Psoríase
☐ Cancro
☐ Alergias
☐ Reumático
☐ Asma
☐ Urticária
☐ Deformação/espessamento da unha dos pés
☐ Pé de Atleta
☐ Nenhuma destas doenças
☐ Outra(s) Qual(is)? _____

1.6.1 - Provocou ausência no trabalho? ☐ Sim ☐ Não

1.6.2 - Fez tratamento? Sim ☐ Não ☐

1.6.2.1 - Se SIM, fez algum destes tratamentos?

- ☐ Terapêutica imunossupressora
☐ Quimioterapia
☐ Transplante de órgãos
☐ Outra(s) Qual(is)? _____

1.7 - Nos ÚLTIMOS 8 DIAS teve alguma destas doenças?

- ☐ Deformação/espessamento das unhas dos pés
☐ Pé de atleta
☐ Nenhuma destas doenças
☐ Outra(s) Qual(is)? _____

1.7.1 - Fez tratamento? ☐ Sim ☐ Não

1.7.1.1 - Se SIM, qual(is)?

- ☐ Creme ☐ Comprimidos
☐ Pó ☐ Outro(s)
☐ Verniz Qual(is)? _____

1.8.2 - Provocou ausência no trabalho? ☐ Sim ☐ Não

1.8 - Alguma vez na vida teve alguma destas doenças?

- ☐ Deformação/espessamento das unhas dos pés
☐ Pé de atleta
☐ Nenhuma destas doenças
☐ Outra(s) Qual(is)? _____

1.9-Tem animal de estimação? ☐ Sim ☐ Não

1.9.1 - Se respondeu SIM, qual(is) o(s) animal(is) de estimação?

☐ Cão ☐ Gato ☐ Roedor ☐ Coelho/coelho anão ☐ Aves ☐ Outro(s) Qual(is)? _____

2 - CARACTERÍSTICAS PROFISSIONAIS

2.1 - Qual(is) a(s) actividade(s) que desenvolve e o tempo dispendido por semana neste local de trabalho (horas)?

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Professor de natação Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Instrutor power jump Nº de horas: _____ |
| <input type="checkbox"/> Professor de hidroginástica Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Instrutor body step Nº de horas: _____ |
| <input type="checkbox"/> Nadador salvador Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Instrutor body combat Nº de horas: _____ |
| <input type="checkbox"/> Vigilante de cais Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Instrutor body pump Nº de horas: _____ |
| <input type="checkbox"/> Personal trainer na piscina Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Personal trainer no ginásio Nº de horas: _____ |
| <input type="checkbox"/> Instrutor de rpm/cycling Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Vigilante ginásio Nº de horas: _____ |
| <input type="checkbox"/> Instrutor de body attack Nº de horas: _____ | <input type="checkbox"/> Outra(s) Qual(is)? _____ Nº de horas: _____ |



64083

2.2 - Há quanto tempo desenvolve a profissão (meses)? _____

2.3 - Há quanto tempo desenvolve actividades neste local de trabalho (meses)? _____

2.4 - Anda DESCALÇO em algum destes locais?

- ☐ Junto à piscina
☐ No estúdio/ginásio
☐ Nos vestiários (junto aos cacifos)
☐ Na cabine de duche
☐ Junto ao jacuzzi
☐ No banho turco
☐ Na sauna
☐ Nunca anda descalço
☐ Outro(s) Qual(is)? _____

2.5 - Que calçado utiliza?

- ☐ Chinelos
☐ Ténis sem meias
☐ Ténis com meias
☐ Outro(s) Qual(is)? _____

3 - ACTIVIDADES DE LAZER

3.1 - Costuma frequentar piscinas no seu tempo livre?

☐ Sim ☐ Não

3.1.1 - Se SIM, há quanto tempo (meses): _____

3.1.2 - Se respondeu SIM, qual a frequência?

- ☐ Ocasionalmente
☐ Duas vezes por semana
☐ Três a cinco vezes por semana
☐ Todos os dias

3.1.3 - Se SIM, qual(is) a(s) piscina(s) que frequenta?

- ☐ Pertencente ao ginásio
☐ Piscina Municipal
☐ Piscina do condomínio
☐ Piscina privativa
☐ De outro ginásio
☐ Outra(s) Qual(is)? _____

3.2 - Pratica actividade desportiva no seu tempo livre? ☐ Sim ☐ Não

3.2.1 - Se respondeu SIM, qual(is) a actividade(s) desportiva(s) que pratica?

☐ Natação ☐ Pólo aquático ☐ Judo ☐ Atletismo ☐ Ginástica Desportiva ☐ Outra(s) Qual(is)? _____

3.2.2 - Se respondeu SIM, qual a frequência?

- ☐ Ocasionalmente
☐ Duas vezes por semana
☐ Três a cinco vezes por semana
☐ Todos os dias

3.2.3 - Onde pratica a actividade desportiva?

- ☐ Neste ginásio
☐ Noutro ginásio
☐ Clube desportivo
☐ Pavilhão desportivo de escola
☐ Exterior
☐ Outro(s) Qual(is)? _____

3.3 Anda DESCALÇO em algum destes locais?

- ☐ Junto à piscina
☐ No estúdio/ginásio/sala de treinos
☐ Nos vestiários (junto ao cacifo)
☐ Na cabine de duche
☐ No jacuzzi
☐ No banho turco
☐ Na sauna
☐ Nunca anda descalço
☐ Outro(s) Qual(is)? _____

3.4 - Que calçado utiliza?

- ☐ Chinelos
☐ Ténis
☐ Ténis e meias
☐ Outro(s) Qual(is)? _____

SE PREENCHEU O QUESTIONÁRIO, POR FAVOR LEIA O TEXTO EM BAIXO E ASSINE

Eu, _____ declaro a minha autorização consentida em participar no estudo “**Avaliação da Exposição a Fungos nas Piscinas e Ginásios – O Caso dos Profissionais e Utilizadores Frequentes**”, elaborado por Carla Sofia Costa Viegas docente da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (ESTeSL) e doutoranda da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP). Para tal, autorizo a utilização dos dados obtidos através do questionário preenchido.

Acresce-se que a **privacidade** assim como a completa **confidencialidade** dos dados obtidos será assegurada.

Data ____/____/____

Assinatura _____

Muito Obrigado pela sua Colaboração!

GRELHA DE OBSERVAÇÃO COLHEITAS BIOLÓGICAS

Data	Hora	Nº de Ordem	Actividade Desportiva Antes da Colheita:
___/___/___	___:___	_____	Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Se SIM, qual? _____

1 - CARACTERÍSTICAS PESSOAIS

1.1 - Sexo	1.2 - Ano de Nascimento	1.3 - Local de Trabalho:
F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>	___/___/___	Piscina <input type="checkbox"/> Ginásio <input type="checkbox"/> Outro(s) <input type="checkbox"/> Qual(is)? _____



2 – INFORMAÇÕES SOBRE A COLHEITA

2.1 Apresenta lesão visível? Sim ☐ Não ☐

2.2. Se SIM, qual o local da lesão?

<p>2.2.1 Planta do pé <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.2 Dorso do pé interior <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.3 Dorso do pé exterior <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.4 Entre os dedos <input type="checkbox"/></p> <p>Quais? _____</p> <p>2.2.5 Unha do pé (dedo grande) <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.6 Unhas dos pés <input type="checkbox"/></p>	<p>2.2.7 Local na unha <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.7.1 Distal <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.7.2 Lateral <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.7.3 Proximal <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.7.4 Superficial <input type="checkbox"/></p> <p>2.2.7.5 Outra(s) <input type="checkbox"/></p> <p>Qual(is)? _____</p>
--	--

2.3 Local da colheita (assinale o local)

<p>2.3.1 Unha</p> 	<p>2.3.2 Pé</p> 
--	--

O Técnico de Anatomia Patológica

GRELHA DE OBSERVAÇÃO PARA GINÁSIOS COM PISCINAS

Dia ____ / ____ / ____ Hora ____ : ____

1 - IDENTIFICAÇÃO DO ESTABELECIMENTO

Denominação: _____ Morada: _____

Responsável técnico: _____ Interlocutor: _____

2 - CARACTERIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES

2.1 Ginásio (sala/estúdio)

Área: _____ Nº de salas/estúdios: _____

Actividades Realizadas (pé descalço)	Nº horas semanais
Pilates <input type="checkbox"/>	_____
Pilates com Bola <input type="checkbox"/>	_____
Aula de Manutenção <input type="checkbox"/>	_____
Yoga <input type="checkbox"/>	_____
Alongamento <input type="checkbox"/>	_____
Body Balance <input type="checkbox"/>	_____
Outra(s) <input type="checkbox"/>	_____
Qual(is)? _____	

2.1 Caracterização da piscina

Tipo	Base Formativa	Base Terapêutica	Base Recreativa
Coberta <input type="checkbox"/>	Aprendizagem <input type="checkbox"/>	Fisioterapia <input type="checkbox"/>	Hotéis <input type="checkbox"/>
Ar Livre <input type="checkbox"/>	Desportivas <input type="checkbox"/>	Termas <input type="checkbox"/>	Condomínios <input type="checkbox"/>
	Polivalentes <input type="checkbox"/>		Health Club <input type="checkbox"/>
			Outros <input type="checkbox"/>

Origem da Água:

Oceano <input type="checkbox"/>	Rio <input type="checkbox"/>	Rede Pública <input type="checkbox"/>	Captação Própria <input type="checkbox"/>
---------------------------------	------------------------------	---------------------------------------	---

Livro de Registo de Ocorrências: Sim ☐ Não ☐

3 - TRABALHADORES

3.1 Ginásio

Trabalhadores	Nº
Professor de Pilates <input type="checkbox"/>	_____
Pilates com Bola <input type="checkbox"/>	_____
Personal Trainer <input type="checkbox"/>	_____
Professor de Manutenção <input type="checkbox"/>	_____
Professor de Yoga <input type="checkbox"/>	_____
Professor de Body Balance <input type="checkbox"/>	_____
Outro(s) <input type="checkbox"/>	_____
Qual(is)? _____	

3.2 Piscina

Trabalhadores	Nº
Professor de Natação <input type="checkbox"/>	_____
Professor de Hidroginástica <input type="checkbox"/>	_____
Personal Trainer <input type="checkbox"/>	_____
Fisioterapeuta <input type="checkbox"/>	_____
Vigilante de Cais <input type="checkbox"/>	_____
Nadador Salvador <input type="checkbox"/>	_____
Técnico de Limpeza <input type="checkbox"/>	_____
Outro(s) <input type="checkbox"/>	_____
Qual(is)? _____	

4 - UTILIZADORES

4.1 Ginásio

Utilizadores	Lotação	
	Diária	Horário
Crianças <input type="checkbox"/>	_____	_____
Adultos <input type="checkbox"/>	_____	_____
Idosos <input type="checkbox"/>	_____	_____
Classe Especial <input type="checkbox"/>	_____	_____

4.2 Piscina

Utilizadores	Lotação	
	Diária	Horário
Bebés <input type="checkbox"/>	_____	_____
Crianças <input type="checkbox"/>	_____	_____
Adultos <input type="checkbox"/>	_____	_____
Idosos <input type="checkbox"/>	_____	_____
Classe Especial <input type="checkbox"/>	_____	_____

5 - CLIMATIZAÇÃO/VENTILAÇÃO

Climatização: Temperatura ☐ Humidade relativa ☐

Ventilação: Natural ☐ Artificial ☐

Ventilação Artificial: Insuflação ☐ Exaustão ☐

Ar renovado: ____ **Caudal Renovado:** ____

Manutenção Periódica: Sim ☐ Não ☐

Periodicidade: _____

Ações de manutenção desenvolvidas: _____

6 - SERVIÇOS ANEXOS

Revestimentos Pavimentos: Cabine De Duche: _____ Vestiários: _____ Próximo Tanque: _____

Revestimentos Paredes: Cabine De Duche: _____ Vestiários: _____ Próximo Tanque: _____

Vestiários intercalados no percurso Pé-Calçado/Pé-Descalço: Sim ☐ Não ☐

7 - HIGIENE DAS INSTALAÇÕES

Locais	Periodicidade		Produtos Utilizados	
	Limpeza	Desinfecção	Limpeza	Desinfecção
Cais da Piscina				
Sala/Estúdio				
Balneários				
Vestiários				

Observações: _____

8 - PARÂMETROS AMBIENTAIS

Locais	Temperatura	Humidade relativa	Velocidade do Ar
Cais da Piscina			
Sala/Estúdio			
Balneários/Vestiários Femininos			
Balneários/Vestiários Masculinos			
Local de Referência			

Observações: _____

9 - LOCAIS DAS COLHEITAS AMBIENTAIS

Locais	Ar	Hora	Superfícies	Hora A. L.
Sala/Estúdio				
Balneários/vestiários Femininos				
Balneários/vestiários Masculinos				
Nave da Piscina				
Plataforma de Saltos				
Último Degrau da Escada de Acesso ao Tanque				
Topos do Tanque (nº ____)				
Antes do Lava-pés				
Local de Referência				
Outro(s) _____				

Observações: _____

